

8/5/2

DIALOG(R) File 351:Derwent WPI
(c) 2001 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

010754811

WPI Acc No: 1996-251766/199625

XRAM Acc No: C96-079736

Enhancing immunogenicity by coupling immunogen to serum albumin-binding protein - useful for preparing improved vaccines, e.g. against Respiratory Syncytial Virus

Patent Assignee: FABRE MEDICAMENT SA PIERRE (FABR)

Inventor: ANDREONI C; BINZ H; NGUYEN NGOC T; NYGREN P A; STAHL S; UHLEN M; NGOC T N; NYGREN A; NGUYEN N T

Number of Countries: 024 Number of Patents: 010

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
WO 9614416	A1	19960517	WO 95FR1466	A	19951107	199625 B
FR 2726471	A1	19960510	FR 9413310	A	19941107	199626
ZA 9509419	A	19960731	ZA 959419	A	19951107	199635
AU 9641202	A	19960531	WO 95FR1466	A	19951107	199639
			AU 9641202	A	19951107	
EP 791064	A1	19970827	EP 95939338	A	19951107	199739
			WO 95FR1466	A	19951107	
BR 1100315	A3	19971104	BR 971100315	A	19970422	199751
JP 10509311	W	19980914	WO 95FR1466	A	19951107	199847
			JP 96515110	A	19951107	
NZ 296564	A	19990629	NZ 296564	A	19951107	199931
			WO 95FR1466	A	19951107	
AU 712468	B	19991104	AU 9641202	A	19951107	200003
US 6149911	A	20001121	WO 95FR1466	A	19951107	200101
			US 97836501	A	19970701	

Priority Applications (No Type Date): FR 9413310 A 19941107

Cited Patents: 07Jnl.Ref; EP 327522; US 4415491; WO 9116926; WO 9201471; WO 9306218

Patent Details:

Patent No Kind Lan Pg Main IPC Filing Notes

WO 9614416 A1 F 102 C12N-015/31

Designated States (National): AU CA JP NZ US

Designated States (Regional): AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE

FR 2726471 A1 27 A61K-039/385

ZA 9509419 A 97 A61K-000/00

AU 9641202 A C12N-015/31 Based on patent WO 9614416

EP 791064 A1 F C12N-015/31 Based on patent WO 9614416

Designated States (Regional): AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU MC NL PT SE

BR 1100315 A3 C12N-015/64

JP 10509311 W 101 C12N-015/09 Based on patent WO 9614416

NZ 296564 A A61K-039/385 Based on patent WO 9614416

AU 712468 B C12N-015/31 Previous Publ. patent AU 9641202

Based on patent WO 9614416

US 6149911 A A61K-039/12 Based on patent WO 9614416

Abstract (Basic): WO 9614416 A

A method of enhancing the immunogenicity of an immunogen, antigen

or hapten, upon admin. to a host by whatever delivery means, the immunogen being covalently coupled to a polypeptide fragment (P) capable of specifically binding to mammalian serum albumin to form a complex, is new.

USE - The complexes and sequences encoding them are useful for preparing vaccines against bacteria, parasites or esp. viruses. The immunogen is pref. derived from a surface glycoprotein (e.g. haemagglutinin neuraminidase HN or fusion protein F) of hepatitis A, B or C virus, measles virus or parainfluenza virus 3. In particular, the immunogen is derived from amino acids 130-230 of Respiratory Syncytial Virus (RSV) sub-group A or B protein G (designated "G2A").

ADVANTAGE - Immunogenicity of an antigen or hapten is enhanced when covalently coupled to (P). In the specific case where immunogen G2A was fused to BB it was found that BB induces T helper memory cells leading the prodn. of anti-G2A antibodies by stimulated B cells.

Dwg.0/1

Title Terms: ENHANCE; IMMUNOGENIC; COUPLE; IMMUNOGENIC; SERUM; ALBUMIN; BIND; PROTEIN; USEFUL; PREPARATION; IMPROVE; VACCINE; RESPIRATION; VIRUS

Derwent Class: B04; D16

International Patent Class (Main): A61K-000/00; A61K-039/12; A61K-039/385; C12N-015/09; C12N-015/31; C12N-015/64

International Patent Class (Additional): A61K-039/00; A61K-039/002; A61K-039/02; A61K-039/155; A61K-039/29; A61K-039/39; A61K-048/00; C07K-001/10; C07K-014/315; C07K-019/00; C12N-015/45; C12N-015/62; C12N-015/63; C12N-015/74

File Segment: CPI

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C12N 15/31, 15/62, A61K 39/385	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 96/14416 (43) Date de publication internationale: 17 mai 1996 (17.05.96)
--	----	---

(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR95/01466 (22) Date de dépôt international: 7 novembre 1995 (07.11.95)	(81) Etats désignés: AU, CA, JP, NZ, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
(30) Données relatives à la priorité: 94/13310 7 novembre 1994 (07.11.94) FR	Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i>
(71) Déposant (<i>pour tous les Etats désignés sauf US</i>): PIERRE FABRE MEDICAMENT [FR/FR] ; 45, place Abel-Gance, F-92100 Boulogne (FR).	
(72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (<i>US seulement</i>): BINZ, Hans [CH/FR] ; Les Crêtes, F-74160 Beaumont (FR). NGUYEN NGOC Thien [FR/FR] ; 7, les Petits-Hutins-Lathoy, F-74160 Saint-Julien-en-Genevois (FR). ANDREONI, Christine [FR/FR] ; 9, route d'Apremont, F-01130 Nantua (FR). NYGREN, Per, Ake [SE/SE] ; Pilotgatan 22, S-128 32 Skarpnack (SE). STAHL, Stefan [SE/SE] ; Torphagsvägen 8, S-104 05 Stockholm (SE). UHLEN, Mathias [SE/SE] ; Surbrunnsgatan 7, S-104 05 Stockholm (SE).	
(74) Mandataire: MARTIN, Jean-Jacques ; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).	

(54) Title: **METHOD FOR ENHANCING THE IMMUNOGENICITY OF AN IMMUNOGENIC COMPOUND OR HAPten, AND USE THEREOF FOR PREPARING VACCINES**

(54) Titre: **PROCEDE POUR AMÉLIORER L'IMMUNOGENICITÉ D'UN COMPOSÉ IMMUNOGENE OU D'UN HAPtENE ET APPLICATION A LA PRÉPARATION DE VACCINS**

(57) Abstract

A method for enhancing the immunogenicity of an immunogen, antigen or hapten on delivery to a host, regardless of the delivery method, wherein said antigen or hapten is covalently coupled to a carrier molecule to form a complex, and the carrier molecule is a polypeptide fragment capable of specifically binding to mammalian serum albumin. The use of the resulting product as a drug is also disclosed.

(57) Abrégé

La présente invention concerne un procédé pour améliorer l'immunogénicité d'un immunogène, d'un antigène ou d'un haptène, lorsqu'il est administré à un hôte, indépendamment du mode d'administration, caractérisé en ce que ledit antigène ou haptène est couplé de façon covalente à une molécule support, pour former un complexe, et en ce que cette molécule support est un fragment polypeptidique capable de se lier spécifiquement à la sérumalbumine de mammifère. Elle concerne également l'utilisation, à titre de médicament, du produit susceptible d'être ainsi obtenu.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	GB	Royaume-Uni	MR	Mauritanie
AU	Australie	GE	Géorgie	MW	Malawi
BB	Barbade	GN	Guinée	NE	Niger
BE	Belgique	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BF	Burkina Faso	HU	Hongrie	NO	Norvège
BG	Bulgarie	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BJ	Bénin	IT	Italie	PL	Pologne
BR	Brésil	JP	Japon	PT	Portugal
BY	Bélarus	KE	Kenya	RO	Roumanie
CA	Canada	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CF	République centrafricaine	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CG	Congo	KR	République de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KZ	Kazakhstan	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SK	Slovaquie
CM	Cameroun	LK	Sri Lanka	SN	Sénégal
CN	Chine	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	LV	Lettonie	TG	Togo
CZ	République tchèque	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DE	Allemagne	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
DK	Danemark	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	US	Etats-Unis d'Amérique
FI	Finlande	MN	Mongolie	UZ	Ouzbékistan
FR	France			VN	Viet Nam
GA	Gabon				

PROCEDE POUR AMELIORER L'IMMUNOGENICITE D'UN COMPOSE
IMMUNOGENE OU D'UN HAPTENE ET APPLICATION A LA PREPARATION DE
VACCINS.

Le VRS est la cause la plus fréquente d'hospitalisation des 5 nourrissons de moins d'un an pour les infections respiratoires aiguës. Les enfants atteints de laryngotrachéobronchites, bronchiolites et pneumonies nécessitent des soins hospitaliers et chez les nourrissons présentant des maladies cardiaques congénitales, le taux de mortalité est supérieur à 37 %. D'autres troubles comme les dysplasies 10 bronchopulmonaires, les maladies rénales et l'immunodéficience sont autant de facteurs responsables de mortalités élevées. Les infections au VRS peuvent également être une cause de mortalité chez les personnes âgées.

Dans les pays tempérés, l'épidémie du VRS se manifeste pendant la 15 période hivernale de novembre à avril et la plus grande incidence de sérieuses maladies survient chez le nourrisson de 2 à 6 mois. On distingue deux types de VRS : VRS-A et VRS-B par la variation antigénique de la glycoprotéine G du VRS : sous-groupe A et sous-groupe B, qui circulent concurremment. Une étude récente en France de 1982 à 1990 a montré une 20 alternance d'un sous-groupe à l'autre sur une période de 5 ans. La souche A est souvent la cause des atteintes d'infections plus graves que la souche B.

Dans les années 60, la tentative de mise au point de vaccins 25 classiques, c'est-à-dire le VRS inactivé par le formol, analogue à des vaccins antirougeoleux, a échoué. Au lieu de conférer une protection chez l'enfant vacciné, ce type de vaccin a eu pour effet de potentialiser la maladie virale naturelle.

Le VRS humain appartient au genre *pneumovirus*, membre de la 30 famille des *Paramyxoviridae*. Le génome du virus est constitué d'un brin d'ARN à polarité négative, non segmenté, codant pour 10 protéines distinctes : NS1, NS2, N, P, M, SII (ou 1A), G, F, M2 (ou 22K) et L.

De nombreuses expériences publiées ont démontré que les protéines 35 majeures impliquées dans la protection sont : F, G et N. La glycoprotéine de fusion F synthétisée comme précurseur F_0 est scindée en deux sous-unités F1 (48 kDa) et F2 (20 kDa) reliées par des ponts disulfures. La protéine F est conservée entre le VRS-A et le VRS-B (91 % homologie). A l'inverse, la glycoprotéine d'attachement G est très variable d'un sous-groupe à l'autre.

Seulement une région de 13 acides aminés (aa 164 à aa 176) est hautement conservée et quatre résidus cystéine (173, 176, 182 et 186) sont maintenus dans chaque sous-groupe. Il a été démontré sur les modèles animaux que les deux glycoprotéines F et G jouent un rôle majeur dans l'immunologie du VRS. Les anticorps monoclonaux dirigés contre G et F sont capables de neutraliser le virus *in vitro* et passivement administrés, ils protègent le rat des cotonniers contre l'infection par le VRS.

Les traitements actuels contre l'aggravation de la maladie due au VRS chez le nourrisson sont les dégagements de l'encombrement des voies respiratoires par aspiration de mucosités et l'assistance respiratoire par ventilation. Un antiviral, la Ribavirine semble être efficace dans les cas gravement atteints. Cependant, son utilisation dans la thérapie pédiatrique est encore mal définie. L'immunisation passive avec des immunoglobulines anti-VRS est une voie alternative dans les traitements des infections graves au VRS : aucun effet secondaire indésirable n'a été observé. Néanmoins, ce type de traitement est très coûteux et difficilement extrapolable à grande échelle.

Les différentes approches de vaccination contre le VRS humain ont été entreprises : soit le vaccin protège contre l'infection du VRS chez l'animal (rongeurs, primates) mais induit une pathologie pulmonaire, soit le vaccin n'est pas assez immunogénique et ne protège pas (Connors et col, Vaccine 1992 ; 10 : 475-484).

C'est pourquoi la présente invention a pour objet un procédé pour améliorer l'immunogénicité d'un immunogène en particulier d'un antigène, ou d'un haptène, lorsqu'il est administré à un hôte, indépendamment du mode d'administration, caractérisé en ce que ledit immunogène ou haptène est couplé de façon covalente à une molécule support, pour former un complexe, et en ce que cette molécule support est un fragment polypeptidique capable de se lier spécifiquement à la sérumalbumine de mammifère.

L'administration peut notamment être entérale, parentérale, ou orale.

Le complexe entre l'immunogène et la molécule support voit son immunogénicité améliorée par rapport à celle de l'immunogène seul, en l'absence de tout autre immunostimulant.

Un complexe particulièrement adapté pour la mise en oeuvre de la présente invention est obtenu par l'utilisation d'un conjugué avec un polypeptide dérivé de la protéine G du streptocoque ; cette protéine a été caractérisée par Nygren et col (J.Mol. Recognit. 1988 ; 1 : 69-74).

5 L'invention a pour objet un procédé dans lequel la molécule support présente la séquence en acides aminés notée séquence ID n° : 74 ou une séquence présentant au moins 80% et de préférence au moins 90% d'homologie avec ladite séquence ID n° : 74.

10 Cette séquence peut être associée à des séquences de liaison favorisant son expression dans un hôte.

On peut également utiliser selon l'invention une molécule support présentant l'une des séquences ID n° : 75 ou n° : 78, ainsi que des molécules présentant au moins 80% et de préférence au moins 90% d'homologie avec lesdites séquences.

15 La séquence peptidique ID n° : 78 présente les caractéristiques suivantes :

Séquence ID n° : 78

Poids Moléculaire : 26529

20 Gly: 10 (4.08 %); Ala: 30 (12.24 %); Ser: 14 (6.12 %);
Thr: 16 (6.53 %); Val: 20 (8.16 %); Ieu 23 (9.39 %);
Ile: 12 (4.90 %); Pro: 4 (1.63 %); Cys: 0 (0.00 %);
Met: 1 (0.41 %); His: 2 (0.82 %); Tyr: 9 (3.67 %);
25 Asp: 19 (7.76 %); Glu: 19 (8.16 %); Lys 27 (11.02 %);
Arg: 5 (2.04 %); Asn: 16 (6.94 %); Gln: 8 (3.27 %);
Phe: 7 (2.86%);

30 Le complexe entre la molécule support et le composé dont on souhaite améliorer l'immunogénicité peut être produit par les techniques d'ADN recombinant, notamment par insertion ou fusion dans la molécule d'ADN codant pour le support, de l'ADN codant pour l'immunogène ou l'haptène.

35 Selon un autre mode de mise en oeuvre le couplage covalent entre la molécule support et l'immunogène est réalisé par voie chimique, selon des techniques connues de l'homme du métier.

L'invention a également pour objet un gène de fusion permettant la mise en oeuvre du procédé d'amélioration de l'immunogénicité caractérisé en ce qu'il comprend une molécule d'ADN hybride produite par insertion ou fusion dans la molécule d'ADN codant pour la molécule support, de 5 l'ADN codant pour l'immunogène ou haptène, fusionnée avec un promoteur; elle comprend également un vecteur contenant un tel gène, ledit vecteur pouvant avoir notamment pour origine un vecteur d'ADN qui provient d'un plasmide, d'un bactériophage, d'un virus et/ou d'un cosmid.

10 Un vecteur présentant la séquence ID n° : 76 ou 77 fait partie de l'invention, ainsi que le polypeptide correspondant. Ces polypeptides présentent les caractéristiques suivantes :

15 Séquence ID n° : 76
Poids Moléculaire : 38681

Gly: 11 (3.15 %);	Ala: 31 (8.88 %);	Ser: 18 (5.16 %);
Thr: 37 (10.60 %);	Val: 25 (7.16 %);	Leu: 23 (6.59 %);
Ile: 15 (4.30 %);	Pro: 19 (5.44 %);	Cys: 4 (1.15 %);
20 Met: 2 (0.57 %);	His: 4 (1.15 %);	Tyr: 9 (2.58 %);
Asp: 22 (6.30 %);	Glu: 22 (6.30 %);	Lys: 48 (13.75 %);
Arg: 7 (2.01 %);	Asn: 26 (7.45 %);	Gln: 13 (3.72 %);
Phe: 12 (3.44 %);	Trp: 1 (0.29 %);	

25 Séquence ID n° : 77
Poids Moléculaire : 39288

Gly: 12 (3.37 %);	Ala: 31 (8.71 %);	Ser: 22 (6.18 %);
Thr: 37 (10.39 %);	Val: 26 (7.30 %);	Leu: 23 (6.46 %);
Ile: 15 (4.21 %);	Pro: 21 (5.90 %);	Cys: 2 (0.56 %);
30 Met: 2 (0.56 %);	His: 4 (1.12 %);	Tyr: 9 (2.53 %);
Asp: 23 (6.46 %);	Glu: 22 (6.18 %);	Lys: 48 (13.48 %);
Arg: 7 (1.97 %);	Asn: 26 (7.30 %);	Gln: 13 (3.65 %);
Phe: 12 (3.37 %);	Trp: 1 (0.28 %);	

La molécule d'ADN codant pour le complexe entre l'immunogène et la molécule support peut être intégrée dans le génome de la cellule hôte.

Le procédé selon l'invention comprend, dans l'un de ses modes de mise en œuvre, une étape de production du complexe, par génie 5 génétique, dans une cellule hôte.

La cellule hôte peut être de type procaryote et être notamment choisie dans le groupe comprenant : *E. coli*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* et *Streptococcus* ; il peut également s'agir d'une levure.

10 Selon un autre aspect, la cellule hôte provient d'un mammifère. Le gène de fusion codant pour le complexe ayant une immunogénicité améliorée peut notamment être introduit dans la cellule hôte par l'intermédiaire d'un vecteur viral.

15 L'immunogène utilisé provient de préférence de bactéries, de parasites et de virus.

15 Cet immunogène peut être un haptène : peptide, polysaccharide.

Le procédé selon l'invention est particulièrement approprié pour un 20 polypeptide de surface d'un agent pathogène. Lorsque celui-ci est exprimé sous forme de protéine de fusion, par les techniques d'ADN recombinant, la protéine de fusion est avantageusement exprimée, ancrée et exposée à la 25 surface de la membrane des cellules hôtes. On utilise des molécules d'acides nucléiques qui sont capables de diriger la synthèse de l'antigène dans la cellule hôte.

Elle comprennent des séquences promoteur, signal de sécrétion lié 25 de façon fonctionnelle et séquence codant pour une région d'ancre membranaire, qui seront adaptées par l'homme du métier.

L'immunogène peut notamment dériver d'une glycoprotéine de surface du VRS : F et/ou G.

Des résultats particulièrement avantageux sont obtenus avec des 30 fragments de la protéine G du VRS, sous-groupes A ou B.

Les protéines dérivées de la glycoprotéine G du sous-groupe A et du sous-groupe B du VRS peuvent être génétiquement fusionnées ou chimiquement couplées à BB.

35 L'invention a donc pour objet un complexe obtenu à partir de la séquence comprise entre les amino acides 130 et 230 de la protéine G du VRS, ou une séquence présentant au moins 80% d'homologie avec ladite séquence de la protéine G.

Cette séquence peut être obtenue à partir de VRS humain ou bovin, appartenant aux sous-groupes A ou B.

La séquence comprise entre les amino acides 130 et 230 de la protéine G peut subir divers types de modifications destinées à moduler son activité immunogénique et son expression par le système hôte.

La Demanderesse a, en particulier, montré l'intérêt des polypeptides dans lesquels :

- l'acide aminé Cys en positions 173 et/ou 186 a été remplacé par un aminoacide ne formant pas de pont disulfure en particulier la serine, et/ou
- les acides aminés en positions 176 et 182 sont susceptibles de former un pont covalent autre qu'un pont disulfure notamment l'acide aspartique et l'ornithine, et/ou
- les acides aminés phénylalanine correspondant aux positions 163, 165, 168 et/ou 170 de la séquence de la protéine G sont remplacés par un acide aminé polaire, en particulier la sérine, et/ou
- la séquence comprise entre les acides aminés numérotés 162 et 170 est délétée.

Des peptides présentant l'une des séquences ID n° : 1 à 73, ou une séquence possédant au moins 90% d'homologie avec l'une des séquences ID n° 1 à 73 sont ainsi particulièrement adaptés à la mise en oeuvre de l'invention.

D'autres immunogènes adaptés à la mise en oeuvre du procédé selon l'invention comprennent un dérivé de la protéine de surface du virus de l'hépatite A, B et C, une protéine de surface du virus de la rougeole, une protéine de surface du virus parainfluenza 3, en particulier une glycoprotéine de surface telle que hémagglutinine, neuraminidase HN et la protéine de fusion F.

Les séquences nucléotidiques, ARN ou ADN, codant pour des complexes tels que définis précédemment, et comportant des éléments permettant de cibler l'expression dans certaines cellules hôtes spécifiques sont comprises dans l'invention. Elles peuvent être incorporées dans un vecteur, viral ou plasmidique ; ce vecteur sera administré à un mammifère, notamment au sein d'une composition pharmaceutique, pour permettre la production *in situ* du complexe entre l'immunogène et la molécule support.

L'invention a également pour objet l'utilisation d'un gène de fusion ou d'un complexe entre un immunogène (P) et une molécule support tels que définis précédemment, à titre de médicament. Les compositions pharmaceutiques contenant le gène ou le complexe avec des excipients physiologiquement acceptables font également partie de l'invention. Ils sont particulièrement adaptés à la préparation d'un vaccin.

5 L'immunisation pourra être obtenue par l'administration de la séquence nucléotidique, seule ou par l'intermédiaire d'un vecteur viral. On peut également utiliser la cellule hôte, notamment une bactérie 10 inactivée. Enfin, le complexe obtenu par couplage chimique ou sous forme de protéine de fusion induit une réponse d'anticorps très forte comparée à (P) seul couplé à l'adjuvant de Freund.

15 Dans le cadre d'un vaccin contre le VRS, la Demanderesse a montré l'efficacité de la protéine de fusion BBG2A, où G2A est un fragment de 101 acides aminés de la protéine G du VRS-A (G aa 130 - aa 230) Seq id n°1. Immunisés chez les rongeurs, BBG2A et BBG2A δ C couplés à l'Alum (Hydroxyde d'Aluminium) confèrent une protection totale contre l'épreuve de challenge contre le VRS-A (souche Long).

20 Les exemples qui suivent sont destinés à illustrer l'invention sans aucunement en limiter la portée.

Dans ces exemples on se référera à la figure suivante :

- Figure 1 : Construction de pVABB2(A).

25 EXEMPLE 1 : CLONAGE DE GENE G2A ET G2A δ C DANS VECTEUR D'EXPRESSION pVABB308 ET PRODUCTION DE PROTEINES DE FUSION BBG2A, BBG2A δ C DANS *ESCHERICHIA COLI*

1) Vecteur d'expression pVABB308

Le vecteur d'expression dans *E. coli*, pVABB308 (5,5 Kbp) renferme 30 le promoteur de l'opéron tryptophane (Trp), suivi du gène codant pour la région de liaison à l'Albumine humaine BB, d'origine de la protéine G du Streptocoque (Nygren et col, J. Mol. Recognit. 1988 ; 1 : 69-74) et un site de clonage multiple mp8, auquel on peut insérer divers gènes hétérologues (voir figure 1). Le plasmide pVABB308 contient un gène de résistance à l'Ampicilline (AMP), un gène de résistance à la Tétracycline (Tet) et 35 l'origine de réplication de *E. coli*. L'expression du gène est induite par addition de l'I.A.A. (Indole Acrylic Acid) dans le milieu de culture de *E. coli* en phase de croissance exponentielle.

2) Clonage de gène G2A et G2A δ C dans pVABB308

2.1. BBG2A

Le gène codant pour G (130-230) du VRS-A a été obtenu par la méthode d'assemblage de gènes synthétiques en phase solide (selon Stahl et col, Biotechniques 1992 ; 14 : 424-434) et cloné dans le vecteur d'expression pVABB par les sites de restriction EcoRI et Hind III. Le vecteur résultant est nommé pVABBG2A (5791 pb). Le produit de fusion BBG2A est purifié à partir du cytosol de *E. coli* transformé par le vecteur pVABBG2A sous deux formes :

10 - une forme soluble, BBG2A (sol), après désintégration des cellules et centrifugation, le surnageant contenant les protéines solubles est directement chargé sur colonne d'affinité.

Les produits sont récupérés après élution à pH acide.

15 - une forme insoluble, BBG2A (insoluble), obtenue après renaturation dans un milieu oxydant des corps d'inclusion dissous dans un agent chaotropique (Guanidine HCl) (31, 93) puis purifiée par affinité.

2.2. BBG2A δ C

Les deux résidus cystéine (173, 186) sont remplacés par des sérines (Ser). Lors de l'assemblage de gènes, l'oligonucléotide qui renferme les 2 résidus Cys codés par le triplet (TGC) est substitué tout simplement par un autre oligonucléotide dont un des nucléotides a changé : (TCC) codant pour Ser. Nous avons voulu délibérément altérer un pont disulfure dans cette version pour garder uniquement le pont disulfure formé par les Cys (176,182), qui est critique pour la protection (Trudel et col, Virology 1991 ; 185 : 749-757).

20 Nous avons introduit un résidu Met entre la queue d'affinité BB et G2A ou BB et G2A δ C : BB-Met-G2A, BBM et G2A δ C, ce qui permet d'effectuer un clivage chimique du produit de fusion par le bromure de cyanogène (CNBr) ; le mélange est passé sur colonne d'affinité HSA-Sepharose. Le peptide clivé G2A (G2A δ C) n'est pas fixé et donc récupéré dans l'éluat, ensuite purifié par HPLC phase réverse.

3) Fermentation et purification de protéines de fusion

35 Dans deux erlenmeyers contenant 250 ml de milieu TSB (Tryptic Soy Broth, Difco) avec de l'Ampicilline (100 μ g/ml, Sigma) et de la Tétracycline (8 μ g/ml, Sigma), on inocule avec *E. coli* RV308 transformés avec les plasmides pVABBG2A et pVABBG2A δ C respectivement. On incube pendant

16 heures à T° = 32°C sous agitation. 200 ml de cette culture sont inoculés dans un fermenteur (CHEMAP CF3000, ALFA LAVAL) contenant 2 litres de milieu de culture. Le milieu contient (g/l) = glycérol, 5 ; sulfate d'ammonium, 2,6 ; dihydrogénophosphate de potassium, 3 ; 5 hydrogénophosphate dipotassium, 2 ; citrate de sodium 0,5 ; extrait de levure, 1 ; Ampicilline, 0,1 ; Tétracycline 0,008 ; Thiamine, 0,07 ; sulfate de magnésium, 1 et 1 ml/l de solution de traces éléments et 0,65 ml/l de solution de vitamines. Les paramètres contrôlés durant la fermentation sont : le pH, l'agitation, la température, le taux d'oxygénéation, 10 l'alimentation de sources combinées (glycérol ou glucose). Le pH est régulé à 7,3. La température est fixée à 32°C. La croissance est contrôlée en alimentant du glycérol à un débit constant pour maintenir le signal de tension de l'oxygène dissous à 30 %. Lorsque la turbidité de la culture (mesurée à 580 nm) atteint la valeur de 80 (environ après 27 heures de 15 culture), la production des protéines est induite par addition de l'acide indole acrylique (I.A.A.) à la concentration finale de 25 mg/l. Trois heures après induction, les cellules sont récoltées par centrifugation. Les rendements en biomasse obtenus sont environ 150 g/l de culture.

Une fraction de 30 g de biomasse humide est resuspendue dans 70 ml 20 de solution de TST (Tris-HCl 50 mM pH 8,0, NaCl 200 mM, 0,05 % Tween 20 et EDTA 0,5 mM). Les cellules sont désintégrées par sonication (Vibracell 72401, Sonics & Materials). Après centrifugation du lysat cellulaire, le surnageant est filtré (1,2 µm) et dilué dans 500 ml de TST. Les protéines de fusion ainsi obtenues sous formes solubles sont purifiées sur colonne 25 d'affinité : HSA-Sepharose (human serum albumin) selon le protocole décrit par (Stahl et al, J. Immunol. Methods, 1989 ; 124 : 43-52).

Le lysat insoluble, après centrifugation, est lavé une fois avec un tampon (Tris-HCl 50 mM pH 8,5 ; MgCl₂ 5 mM). Après lavage, le culot est solubilisé dans 30 ml de chlorhydrate de guanidine 7 M, Tris-HCl 25 mM 30 (pH 8,5), Dithiotreitol (DTT) 10 mM, suivi d'une incubation à 37°C pendant 2 heures. Les protéines solubilisées sont additionnées à un tampon de renaturation (Tris-HCl 25 mM (pH 8,5) ; NaCl 150 mM et 0,05 % Tween 20).

La concentration du chlorhydrate de guanidine est ajustée à la concentration finale de 0,5 M dans le tampon de renaturation avant l'addition des protéines de fusion solubilisées. Le mélange est incubé à température ambiante, sous agitation modérée, pendant 16 heures. Après 5 centrifugation, les produits de fusion solubles dans le surnageant sont purifiés sur colonne HSA-Sepharose. Les protéines de fusion purifiées sont analysées sur gel SDS-PAGE (12 %) dans des conditions réduites, sur l'appareil MINI PROTEAN II SYSTEM (BIORADS). Les protéines sont visualisées avec du Coomassie brilliant blue R250.

10

EXEMPLE 2 : EFFET PORTEUR DU POLYPEPTIDE BB ET IMMUNOGENICITE DE BBG2AδC

1. Schéma d'immunisations

Des souris C57Bl/6 (5 par lot) ont reçu 2 injections sous-cutanée de 10 15 µg d'équivalent G2AδC en présence d'adjuvants de Freund à J0 (adjuvant complet) et J14 (adjuvant incomplet). A J21, les sérum ont été testés individuellement en ELISA pour la production d'anticorps spécifiques de G2AδC. Le titre anticorps est déterminé comme étant l'inverse de la dilution 20 du sérum donnant 2 fois l'absorbance du sérum de l'animal avant immunisation. Les résultats présentés sont la moyenne arithmétique des titres anticorps anti-G2AδC obtenus pour chacun des lots.

TABLEAU DE RESULTATS

25

ANTIGENE	Titre moyen d'anticorps anti G2AδC
1) G2AδC + AF	180
2) BBG2AδC + AF	92 800
3) G2AδC + BB + AF	1 200

2. Résultats

Le tableau ci-dessus montre que G2A δ C est un faible immunogène même en présence d'adjuvant de Freund. La protéine BB a un faible pouvoir adjuvant, puisqu'additionnée à G2A δ C le titre anticorps anti-G2A δ C 5 n'augmente que d'un log. En revanche, la fusion de BB à G2A δ C accroît la production d'anticorps anti-G2A δ C d'environ 3 log.

Nous pouvons donc conclure que BB est une excellente protéine porteuse pour G2A δ C et que la protéine de fusion BBG2A δ C est très immunogène.

10

EXEMPLE 3 : ETUDE DE PROTECTION INDUITE PAR DES PROTEINES DE FUSION BBG2A ET BBG2A δ C CHEZ LES RONGEURS

a) Protocoles d'étude

Des souris BALB/c et des rats des cotonniers (*Sigmodon hispidus*) 15 femelles (IFFA-CREDO), modèles animaux pour l'infection par le VRS, sont utilisés dans les expériences d'immunisation.

Les groupes d'animaux reçoivent 1, 2, ou 3 doses de 200 μ g, 20 μ g, 2 μ g ou 0,2 μ g de candidat vaccin VRS-A dans 20 % d'hydroxyde d'aluminium (Al(OH)₃) (v/v) à 2 semaines d'intervalle. Les souris sont immunisées par 20 voie intrapéritonéale (i.p.), les rats des cotonniers par injections intramusculaires (i.m.). Les groupes contrôles reçoivent 10⁵ DICT₅₀ de VRS-A ou du PBS-A (PBS sans Ca²⁺ ni Mg²⁺) dans 20 % d'hydroxyde d'aluminium (v/v).

Trois à quatre semaines après la dernière immunisation, les animaux 25 sont challengés par voie intranasale (i.n.) avec environ 10⁵ DICT₅₀ VRS-A. Ils sont sacrifiés 5 jours plus tard, après ponction sanguine intracardiaque. La présence du virus dans leurs poumons est testée selon Trudel et col, *Virology* 1991 ; 185: 749-757).

Les différents produits testés sont BBG2A, BBG2A δ C et BB seul.

30

b) Tableau de résultats

Résultats de protection chez les rongeurs

5

Tableau 3.1

		<u>Souris</u>	<u>Rat des cotonniers</u>	
	Antigènes	Protection*	Protection complète*	Protection complète
10	BBG2A	41/41+	38/41	22/22
	BBG2AδC	32/34	27/34	7/13
15	BB	0/20	0/20	0/3
	RSV-A	28/28	28/28	17/17
	PBS-A	0/29	0/29	0/21

20 * Protection = une réduction de virus dans les poumons de $\geq \log_{10} 2$ par rapport au titre moyen de virus dans les poumons des souris immunisées avec PBS-A.

• Protection complète = aucun virus détecté dans les poumons.

+ X/Y où X = nombre des animaux protégés ou complètement protégés ;

25 Y = nombre des animaux testés

5

10

15

20

25

30

35

Détails de protection chez la souris

	3 doses d'antigènes			2 doses d'antigènes			1 dose d'antigènes	
	BBG2A	BBG2bC	BBG2A	BBG2bC	BBG2A	BBG2bC	BBG2A	BBG2bC
<u>200 µg/dose</u> Protection complète	9/9+ 9/9	9/9 8/9	4/4 4/4	4/4 3/4	4/4 3/4	4/4 3/4	2/4 1/4	
<u>20 µg/dose</u> Protection complète	4/4 4/4	4/4 4/4	3/3 2/3		NT NT	NT NT	NT NT	NT NT
<u>2 µg/dose</u> Protection complète	4/4 3/4	4/4 3/4	2/2 2/2		NT NT	NT NT	NT NT	NT NT
<u>0,2 µg/dose</u> Protection complète	4/4 4/4	4/4 3/4		NT NT	NT NT	NT NT	NT NT	NT NT

* Protection = une réduction de virus dans les poumons de $\geq 50\%$ par rapport au titre moyen de virus dans les poumons des souris immunisées avec PBS.

des soulis illuminisées avec phos-A.

La protection complète = aucun virus détecté dans les nouveaux

$X = \text{nombre de souris proliférées par couple de souris}$ et $\gamma = \text{taux de mortalité des souris}$.

Y = nom bre de sorties faciliées

$$NT = \text{Non lesi}\text{\'ao}$$

Résultats des test immunologiques chez les souris

Tableau 3.3

	5 Antigènes	ELISA(\log_{10} moyen)	Anticorps neutralisants (titre moyen/25 μ l)
10	BBG2A	5.09 (28)	≥ 512 (15)
	BBG2A δ C	3.71 (29)	≥ 256 (12)
	RSV-A	5.32 (21)	≥ 512 (12)

() = nombre d'animaux testés

c) Discussion

15 Les résultats expérimentaux de protection sont présentés dans les tableaux 3.1. et 3.2. Chaque molécule a été testée au cours de 2 expériences indépendantes au moins. Les résultats montrent clairement que, indépendamment des protocoles d'immunisation utilisés, BBG2A protège les rongeurs contre une infection pulmonaire par le VRS-A. Dans nos 20 conditions expérimentales, une injection unique de 200 μ g, 2 de 2 μ g, ou 3 de seulement 0,2 μ g de BBG2A sont suffisantes pour protéger les souris contre l'infection (Tableau 3.2). Du virus a été détecté chez un troisième animal du même groupe mais à la limite de détection. Ces résultats 25 suggèrent que BBG2A présente un potentiel et une efficacité très comparables à ceux du VRS-A chez les animaux immunisés contrôles et à ceux des vaccins candidats sous-unitaires du VRS-A décrits dans la littérature.

BBG2A δ C a aussi été efficace chez la souris, protégeant 32 animaux sur 34 contre l'infection pulmonaire. Deux doses de 200 μ g se sont révélées efficaces, tout comme 3 injections de 0,2 μ g. Ainsi, dans ces schémas d'immunisation comportant plusieurs injections, BBG2A δ C s'est montré comparable en activité et en efficacité chez la souris aux candidats vaccins sous-unitaires du VRS-A déjà décrits.

Les résultats des tests immunologiques de la réponse humorale et cellulaire, chez la souris BALB/c, sont présentés sur le tableau 3.3. En général, les titres moyens d'anticorps spécifiques anti-VRS-A obtenus en technique ELISA sont considérés comme un des reflets de l'activité protectrice des vaccins candidats. Les sérum des souris immunisées avec le VRS-A ont montré de façon constante des titres d'anticorps anti-VRS-A élevés. Le virus n'a jamais été détecté dans les poumons de ces animaux. Les souris immunisées par BBG2A ont montré des titres moyens d'anticorps anti-VRS-A semblablement élevés et ont toujours été protégées lors d'un challenge par le VRS-A.

BBG2A δ C a permis d'induire des titres moyens d'anticorps anti-VRS-A inférieurs par rapport aux molécules mentionnées ci-dessus. De plus, les animaux immunisés par cette molécule ont montré une protection légèrement réduite. Si les sérum de quelques animaux immunisés par BBG2A δ C ont montré des titres d'anticorps spécifiques anti-VRS-A très faibles (données non représentées), certains de ces animaux ont néanmoins été totalement protégés lors d'un challenge par le VRS-A.

Les études de protection mettent en évidence l'efficacité protectrice des vaccins candidats sous-unitaires anti-VRS-A. Deux molécules, BBG2A et BBG2A δ C, se sont révélées très efficaces dans deux modèles de rongeurs pour l'infection au VRS-A, lors du challenge avec le virus homologue.

EXEMPLE 4: EFFICACITÉ IMMUNOGÉNIQUE ET PROTECTRICE DE BBG2A δ C PAR RAPPORT À G2A δ C CHEZ LA SOURIS BALB/c.

Matériels et méthodes:

Des groupes de 4 souris BALB/c, séronégatives vis-à-vis du VRS-A, ont été immunisées par injections intrapéritonéales (i.p.) 2 fois à 2 semaines d'intervalle avec 5.1, 0.51 et 0.051 nM de BBG2A δ C et de G2A δ C. La dernière molécule est dérivée d'un clivage chimique de BBG2A δ C par le

Bromure de Cyanogène. Un groupe de 3 souris a été immunisé 2 fois à 2 semaines d'intervalle par le tampon PBS pour servir de témoins négatifs. L'Alhydrogel ($\text{Al}(\text{OH})_3$) (20% v/v) (Superfos BioSector, Danemark) a été utilisé comme adjuvant pour toutes les immunisations. Une ponction sanguine est réalisée 2 semaines après la dernière immunisation afin de déterminer les titres ELISA contre le G2A δ C. Les souris ont été challengées avec le VRS-A (10^5 DICT_{50}) 3 semaines après la dernière immunisation. Elles ont été sacrifiées 5 jours plus tard et soumises à une ponction cardiaque afin de titrer les anticorps anti-VRS-A post-challenge, et les poumons ont été prélevés afin de titrer le VRS-A pulmonaire.

Résultats:

Voir Tableau 4.

Les résultats d'ELISA anti-G2A δ C indiquent que BBG2A δ C est toujours plus immunogénique que G2A δ C, quelle que soit la dose administrée (0.051 - 5.1 nM). Surtout à 0.051 nM, BBG2A δ C induit un titre moyen anti-G2A δ C de $\log_{10} 3.27$, alors que la même concentration de G2A δ C n'induit pas des anticorps anti-G2A δ C détectables. De même, pour ce qui concerne les ELISA anti-VRS-A; 4 souris sur 4 immunisées avec 5.1 ou 0.51 nM de BBG2A δ C ont été séropositives, dont des titres moyens de $\log_{10} 2.67$ et 2.78, respectivement. Deux souris sur 4, cependant, immunisées avec 5.1 nM de G2A δ C ont été séropositives, dont une à la limite de détection de l'essai et un titre moyen de $\log_{10} \leq 2.19$. Les souris immunisées avec 0.51 ou 0.051 nM de G2A δ C n'ont pas eu d'évidence d'anticorps anti-VRS-A.

Toutes les souris immunisées avec 5.1 ou 0.51 nM de BBG2A δ C ont eu leurs poumons protégés contre un challenge avec le virus homologue. À part chez une souris immunisée avec 0.51 nM de BBG2A δ C qui n'a présenté du virus qu'à la limite de détection de la méthode, la présence de virus pulmonaire n'a été mise en évidence chez aucun des autres animaux. Après immunisation avec 0.051 nM de BBG2A δ C, 3 souris sur 4 ont été protégées, dont 2 sans évidence de virus pulmonaire. La 4ème a eu une

diminution de virus pulmonaire de l'ordre de \log_{10} 1.16 par rapport au titre moyen des témoins immunisés avec le PBS-A.

Trois souris sur 4, immunisées avec 5.1 nM de G2A δ C, ont eu les poumons protégés contre un challenge avec le VRS-A. La 4ème a eu une 5 diminution du virus pulmonaire de l'ordre de \log_{10} 1.75 par rapport au titre moyen des témoins immunisés avec le tampon PBS-A. Parmi les souris protégées, il n'y a eu qu'une seule sans virus pulmonaire détecté. Nous observons les mêmes résultats après immunisation avec 0.51 nM de G2A δ C, 10 mise à part une souris non-protégée qui n'a pas présenté de diminution importante de virus pulmonaire par rapport aux témoins immunisés avec le tampon PBS-A. Les voies respiratoires inférieures des souris immunisées avec 0.051 nM de G2A δ C n'ont pas été protégées contre un challenge avec le virus homologue.

15 Conclusions :

Les résultats indiquent, selon les conditions de cette étude, que BBG2A δ C est de l'ordre de 10 à 100 fois plus efficace que G2A δ C pour l'induction des réponses immunitaires qui protègent les poumons contre 20 un challenge avec le VRS-A.

35 30 25 20 15 10 5

Tableau 4 : Efficacité comparative d'immunogénicité et de la protection induite chez la souris BALB/c immunisée par BIG2AδC ou G2AδC.

<u>Concentration d'immunogène (nM)</u>	<u>Titre ELISA (log₁₀)</u>		<u>% animaux protégés</u>		<u>log₁₀ DICT50 RSV-A /g poumon</u>	
<u>Immuniisé avec</u>	<u>vs G2AδC</u>	<u>BIG2AδC</u>	<u>BIG2AδC</u>	<u>G2AδC</u>	<u>BIG2AδC</u>	<u>G2AδC</u>
5.1	5.06 ± 0.27	4.70 ± 0.46	2.67 ± 0.83	≤2.19 ± 0.48	100	25
0.51	4.46 ± 0.46	3.86 ± 0.59	2.78 ± 0.60	<1.95 ± 0.00	75	25
0.051	3.27 ± 1.53	<1.95 ± 0.0	≤2.19 ± 0.48	<1.95 ± 0.00	50	0
PBS-A	-	-	-	<1.95 ± 0.00	0	4.03 ± 0.29

10
15
20
25
30

Tableau 5 : Efficacité protectrice des candidats vaccins chez la souris BALB/c contre un challenge avec le VRSA.

<u>Produit</u>	<u>Log₁₀ DICT₅₀ VRSA / g poumon</u>	<u>Titres ELISA (log₁₀)</u>		
		<u>P.I.m* vs antingen</u>	<u>P.I.m vs VRS-A</u>	<u>P.Ch* vs VRS-A</u>
20µg BBC7a	<1.45 ± 0.00	6.25 ± 0.00	3.38 ± 0.00	3.38 ± 0.00
20µg BBC200a	<1.45 ± 0.00	6.41 ± 0.28	4.66 ± 0.28	4.66 ± 0.28
20µg BBC198a	<1.45 ± 0.00	6.09 ± 0.28	4.66 ± 0.28	4.56 ± 0.35
20µg BBC196a	<1.45 ± 0.00	5.93 ± 0.28	4.34 ± 0.00	4.18 ± 0.28
20µg BBC194a	<1.45 ± 0.00	5.77 ± 0.00	4.34 ± 0.48	4.34 ± 0.48
20µg BBC192a	<1.45 ± 0.00	5.77 ± 0.00	3.54 ± 0.28	3.86 ± 0.00
PBS-A	3.74 ± 0.29	-	2.03 ± 0.20	1.95 ± 0.00
RSV-A	<1.45 ± 0.00	-	4.82 ± 0.00	4.82 ± 0.00

* P.I.m. = résultats d'ELISA post-immunisation mais avant challenge.

• P.Ch. = résultats d'ELISA des sérums prélevés par ponction cardiaque lors du sacrifice.

EXEMPLE 5: EFFICACITÉ PROTECTRICE DES CANDIDATS VACCINS CHEZ LA SOURIS BALB/c CONTRE UN CHALLENGE AVEC LE VRS-A.

Matériels et Méthodes :

5

Des groupes de 3 souris ont été immunisés 2 fois à 2 semaines d'intervalle avec 20 µg des produits suivants:

10 BBG7A, BBG200A, BBG198A, BBG196A, BBG194A et BBG192A, G7A(Seq id 29) ; G200(Seq id 23) ; G198(Seq id 24) ; G196(Seq id 25); G194(Seq id 26) ; G192(Seq id 27).

15 Deux groupes de 6 et 4 souris ont été immunisés 2 fois à 2 semaines d'intervalle par le PBS-A et le VRS-A (10^5 TCID₅₀), respectivement, comme témoins. L'Alhydrogel ($Al(OH)_3$) (20% v/v) a été utilisé comme adjuvant pour chaque immunisation. Tous les animaux ont été prélevés à l'oeil avant la 1ère immunisation afin de vérifier leur séronégativité vis-à-vis du VRS-A. Tous étaient séronégatifs ou ont eu des titres à la limite de détection de l'essai ELISA. Deux semaines après la 2ème immunisation, ils ont été prélevés à l'oeil pour confirmer leur séroconversion vis-à-vis des 20 antigènes et du VRS-A. Trois semaines après la dernière immunisation, les souris ont été challengées par voie intra-nasale avec 10^5 TCID₅₀ de VRS-A. Les souris ont été sacrifiées 5 jours après le challenge: elles ont été soumises à une ponction cardiaque; les poumons ont été prélevés afin de titrer le virus dans les voies respiratoires inférieures. Les sérums post-challenge ont été testés en ELISA contre les antigènes viraux.

25

Résultats :

Voir tableau 5.

30

Les souris immunisées avec BBG200A, BBG198A, BBG196A, BBG194A, BBG192A, et BBG7A ont été protégées contre un challenge avec le VRS-A sans évidence de virus dans les poumons. Tous les produits ont induit des titres moyens d'anticorps élevés contre l'antigène d'immunisation (\log_{10} 35 5.77 - 6.41) et le VRS-A (\log_{10} 3.38 - 4.66).

Ces résultats sont en accord avec ceux issus des souris immunisées avec le VRS-A.

Conclusions :

5

Les molécules ci-dessus sont très immunogéniques et induisent des réponses immunitaires capables de protéger les poumons de la souris BALB/c contre un challenge avec le VRS-A. Ils constituent donc des candidats potentiels vaccins contre le VRS-A.

10

EXEMPLE 6: EFFICACITÉ PROTECTRICE DE BB-G4A CHEZ LA SOURIS BALB/c CONTRE UN CHALLENGE AVEC LE VRS-A.

Matériels et Méthodes :

15

Deux groupes de 3 souris ont été immunisés 2 fois à 2 semaines d'intervalle avec 20 µg de BB-G4A ou TT-G4A. Les molécules sont dérivées d'un couplage chimique du peptide G4A (résidus 172-187) sur les protéines porteuses (soit BB soit TT). Deux groupes de 6 et 4 souris ont été immunisés 2 fois à 2 semaines d'intervalle par le PBS-A et le VRS-A (10^5 TCID₅₀), respectivement, comme témoins. L'Alhydrogel ($Al(OH)_3$) (20% v/v) a été utilisé comme adjuvant pour chaque immunisation. Tous les animaux ont été prélevés à l'oeil avant la 1ère immunisation afin de vérifier leur séronégativité vis-à-vis du VRS-A. Tous étaient séronégatifs ou ont eu des titres à la limite de détection de l'essai ELISA. Deux semaines après la 2ème immunisation, ils ont été prélevés à l'oeil pour confirmer leur séroconversion vis-à-vis des antigènes et du VRS-A. Trois semaines après la dernière immunisation, les souris ont été challengées par voie intra-nasale avec 10^5 TCID₅₀ de VRS-A. Les souris ont été sacrifiées 5 jours après le challenge: elles ont été soumises à une ponction cardiaque; les poumons ont été prélevés afin de titrer le virus dans les voies respiratoires inférieures. Les sérums post-challenge ont été testés en ELISA contre les antigènes viraux.

Résultats :

BB-G4A, protéine dérivée d'un couplage du peptide G4A sur BB, a protégé les souris sans évidence du virus pulmonaire. TT-G4A, protéine dérivée d'un couplage du peptide G4A sur TT a été moins efficace que BB-G4A en ce qui concerne la protection des poumons; 2 souris sur 3 ont été protégées, respectivement, dont 1 sans évidence de virus pulmonaire. La souris non-protégée a eu une diminution du taux de virus de l'ordre de \log_{10} 1.52 par rapport aux témoins immunisés par le PBS-A. Les rapports porteur:peptide pour BB-G4A et TT-G4A sont de ~1:7 et ~1:21, respectivement. Ces résultats indiquent donc que BB est un meilleur porteur de G4A que TT.

Les 2 produits ont induit des titres d'anticorps élevés contre l'antigène d'immunisation (\log_{10} 5.77 et 6.73, respectivement, pour les sérum anti-BB-G4A et anti-TT-G4A post-immunisation). Par contre, les animaux immunisés avec ces vaccins candidats ont eu des titres anti-VRS-A très faibles (\log_{10} 2.11 \pm 0.28 et 2.43 \pm 0.48, respectivement, pour les sérum anti-BB-G4A et anti-TT-G4A postimmunisation).

Conclusions :

BB-G4A est capable de protéger les souris contre un challenge avec le VRS-A sans évidence du virus pulmonaire. Il confirme donc son potentiel comme vaccin anti-VRS-A. Les résultats indiquent également que BB est un meilleur porteur de G4A que TT.

Tableau 6: Efficacité protectrice de BB-G4A chez la souris BALB/c contre un challenge avec le VRS-A.

Produit	<u>Log₁₀ DICT₅₀ VRS-A</u> <u>/R. pour un</u>	Titres ELISA (log ₁₀)		
		<u>P.Im* vs</u> <u>antigen</u>	<u>P.Im vs</u> <u>VRS-A</u>	<u>P.Ch^o-vs</u> <u>VRS-A</u>
20µg BB-G4A	≤1.45 ± 0.00	5.77 ± 0.00	2.11 ± 0.28	1.95 ± 0.00
20µg TT-G4A	≤1.76 ± 0.38	6.41 ± 0.28	2.43 ± 0.48	2.27 ± 0.55
PBS-A	3.71 ± 0.29	-	2.03 ± 0.20	1.95 ± 0.00
RSV-A	≤1.45 ± 0.00	-	4.82 ± 0.00	4.82 ± 0.00

• P.Im. = résultats d'ELISA post immunisation mais avant challenge.

• P.Ch. = résultats d'ELISA des sérums prélevés par ponction cardiaque lors du sacrifice.

EXEMPLE 7: PROTECTION CROISÉE DES POUMONS DES SOURIS
BALB/c IMMUNISÉES AVEC BBG2A PAR VOIE INTRAPÉRITONÉALE
VIS-À-VIS D'UN CHALLENGE HÉTÉROLOGUE AVEC LE VRS-B
(SOUCHE 8/60).

5

Matériels et Méthodes :

Des souris BALB/c ont été immunisées soit 2 fois soit 3 fois à 2 semaines d'intervalle avec 20 µg de BBG2A par injection intrapéritonéale.

10 Un autre groupe de souris ont été immunisées de la même façon par le PBS-A comme témoins. L'Alhydrogel ($Al(OH)_3$) (20% v/v) a été utilisé comme adjuvant pour chaque immunisation. Un prélèvement de sang a été réalisé avant la 1ère immunisation afin de vérifier leur séronégativité vis-à-vis du VRS-A. Trois semaines après la dernière immunisation les souris ont été challengées par voie intra-nasale avec 10^5 TCID₅₀ de VRS-A ou avec 10^5 TCID₅₀ de VRS-B. Les souris ont été sacrifiées 5 jours après le challenge: elles ont été soumises à une ponction cardiaque; les poumons ont été prélevés afin de titrer le virus dans les voies respiratoires inférieures. Les sérums post-challenge ont été testés en ELISA contre les antigènes viraux.

15

20

Résultats :

Toutes les souris étaient séronégatives pour le VRS-A au début de l'étude. Le premier groupe, 11 souris sur 11, immunisées avec 20 µg de BBG2A, ont été protégées vis-à-vis d'un challenge avec le VRS-A. Le deuxième groupe, 11 souris sur 11, ont été également protégées vis-à-vis d'un challenge hétérologue avec le VRS-B (tableau 7).

25

30 Conclusions :

L'immunisation des souris BALB/c avec l'antigène BBG2A confère une protection non seulement contre le VRS-A mais également vis-à-vis d'un challenge avec le VRS-B. L'antigène BBG2A induit donc une protection croisée vis-à-vis d'un challenge hétérologue.

35

5
10
15
20
25
30

Tableau 7 : Protection croisée des poumons des souris BALB/c immunisées par BCG2A par voie intrapéritonéale.

	Challenge avec le VRS-A			Challenge avec le VRS-B		
	Log ₁₀ DITC ₅₀ ^a / _b poumon	% protection ^b	Nbre d'animaux immunisés	Log ₁₀ DITC ₅₀ ^a / _b poumon	% protection	Nbre d'animaux immunisés
20 ^{1g} BCG2A	<1.45 ± 0.00	100	11	1.68 ± 0.36	100	11
PBS-A	4.08 ± 0.60	0	4	4.25 ± 0.27	0	5

DITC₅₀^a =< dose infectieuse de culture tissu 50

% protection^b = une réduction de virus dans les poumons de ≥ log₁₀ 1.8 par rapport au titre moyen de virus dans les poumons des souris immunisées avec le PBS-A.

<1.45C = limite de détection de virus dans cet essai.

EXEMPLE 8 : ETUDE DE L'EFFET PRIMING DE BB SUR
L'IMMUNISATION AVEC BBG2A

Des souris BALB/c sont sensibilisées à la protéine BB puis reçoivent
 5 une injection de BBG2A. Les titres IgG anti-G2A obtenus chez ces animaux
 sont comparés de ceux obtenus avec des souris recevant deux injections de
 BBG2A.

Matériel et Méthodes

10

Deux souris BALB/C (N=5/lot) sont immunisées en sous-cutané
 comme décrit ci-dessous :

	J0	J14
15	0.1 ml PBS	0.1 ml PBS
20	lot 1 20 µg BBG2A + AFC	20 µg BBG2A + AFI
	lot 2 100 µg BB + AFC	20 µg BBG2A + AFI

AFC : Adjuvant Freund complet ; AFI : Adjuvant Freund incomplet

25 Le sang des animaux est prélevé à J7 et J21 et le titre IgG sérique anti-G2A
 est déterminé individuellement par ELISA.

Résultats

Tableau de titres IgG anti-G2A

5	J7	J21		
		LOT 2	LOT 1	LOT 2
				LOT 3
10	S1	2	2	3.81
	S2	2	2	3.81
	S3	2	2	3.81
15	S4	2	2	4.41
	S5	2	2	3.51
20	$m \pm \sigma$	2	2	3.93 ± 0.27
				4.05 ± 0.54

En résumé, le tableau de titres IgG anti-G2A à J7 et J21 :

25	J0	J7	J14	J21	
				lot 1	0.1 ml PBS
30	lot 2	20 μ g BBG2A + AFC	2	20 μ g BBG2A + AFC	3.93 ± 0.27
	lot 3	100 μ g BB + AFC	-	20 μ g BBG2A + AFC	4.05 ± 0.54

LOT 2 : 2 injections de BBG2A

Une semaine après la première injection de 20 µg de BBG2A, on ne détecte pas d'IgG anti-G2A. En revanche, une semaine après la seconde injection de BBG2A il y a une forte production d'IgG anti-G2A : environ 4log10.

LOT 3 : injection n° 1 = BB, injection n° 2 = BBG2A

Après sensibilisation avec 100 µg de BB, une injection de 20 µg de BBG2A suffit pour induire un titre IgG anti-G2A de 4 log10, titre semblable à celui obtenu avec 2 injections de 20 µg de BBG2A.

Conclusion :

Ces résultats montrent que BB induit la production de cellules Th mémoires qui ont fourni le "help" nécessaire aux cellules B spécifiques de G2A lors de l'immunisation primaire avec BBG2A, ce qui aboutit à une réponse secondaire de type IgG. Ainsi, des cellules B naïves peuvent donc être stimulées pour produire des anticorps anti-G2A.

BB fournit donc le "T cell help" adéquat à la production d'anticorps dirigés contre G2A ; en cela, il se comporte comme une protéine porteuse.

LISTE DE SEQUENCES

(1) INFORMATIONS GENERALES:

(i) DEPOSANT:

- (A) NOM: PIERRE FABRE MEDICAMENT
- (B) RUE: 45 PLACE ABEL GANCE
- (C) VILLE: BOULOGNE
- (E) PAYS: FRANCE
- (F) CODE POSTAL: 92100

(ii) TITRE DE L' INVENTION: PROCEDE POUR AMELIORER L'IMMUNOGENICITE D'UN COMPOSE IMMUNOGENE OU D'UN HAPTENE ET APPLICATION A LA PREPARATION DE VACCINS

(iii) NOMBRE DE SEQUENCES: 78

(iv) FORME DECHIFFRABLE PAR ORDINATEUR:

- (A) TYPE DE SUPPORT: Floppy disk
- (B) ORDINATEUR: Apple Macintosh
- (C) SYSTEME D' EXPLOITATION: MAC OS Systeme 7
- (D) LOGICIEL: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (OEB)

(v) DONNEES DE LA DEMANDE ANTERIEURE:

- (A) NUMERO DE LA DEMANDE: FR 9413310
- (B) DATE DE DEPOT: 07-NOV-1994

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 1:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 303 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..303

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 1:

ACC GTG AAA ACC AAA AAC ACC ACG ACC ACC CAG ACC CAG CCG AGC AAA
 Thr Val Lys Thr Lys Asn Thr Thr Thr Gln Thr Gln Pro Ser Lys
 1 5 10 15

30

CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC AAA CCG AAC AAC	96
Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn Lys Pro Asn Asn	
20 25 30	
GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCG TGC AGC ATC TGC AGC	144
Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys Ser	
35 40 45	
AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA CGT ATC CCG AAC AAA AAA	192
Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys Arg Ile Pro Asn Lys Lys	
50 55 60	
CCG GGC AAA AAA ACC ACG ACC AAA CCG ACC AAA AAA CCG ACC TTC AAA	240
Pro Gly Lys Lys Thr Thr Lys Pro Thr Lys Lys Pro Thr Phe Lys	
65 70 75 80	
ACC ACC AAA AAA GAT CAT AAA CCG CAG ACC ACC AAA CCG AAA GAA GTG	288
Thr Thr Lys Lys Asp His Lys Pro Gln Thr Thr Lys Pro Lys Glu Val	
85 90 95	
CCG ACC ACC AAA CCG	303
Pro Thr Thr Lys Pro	
100	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 2:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 303 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..303

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:

ACC GCG CAG ACC AAA GGC CGT ATC ACC ACC AGC ACC CAG ACC AAC AAA	48
Thr Ala Gln Thr Lys Gly Arg Ile Thr Thr Ser Thr Gln Thr Asn Lys	
1 5 10 15	

CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG CCG AAA AAA CCG AAA GAT Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro Pro Lys Lys Pro Lys Asp	96
20 25 30	
GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCC TGC AGC ATC TGC GGC Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys Ser Ile Cys Gly	144
35 40 45	
AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA ACC ATC CCG AGC AAC AAA Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys Thr Ile Pro Ser Asn Lys	192
50 55 60	
CCG AAA AAG AAA CCG ACC ATC AAA CCG ACC AAC AAA CCG ACC ACC AAA Pro Lys Lys Lys Pro Thr Ile Lys Pro Thr Asn Lys Pro Thr Thr Lys	240
65 70 75 80	
ACC ACC AAC AAA CGT GAT CCG AAA ACC CCG GCG AAA ATG CCG AAG AAG Thr Thr Asn Lys Arg Asp Pro Lys Thr Pro Ala Lys Met Pro Lys Lys	288
85 90 95	
GAA ATC ATC ACC AAC Glu Ile Ile Thr Asn	303
100	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 3:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 303 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:
 (A) NOM/CLE: CDS
 (B) EMPLACEMENT: 1..303

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

ACC GTG AAA ACC AAA AAC ACC ACG ACC ACC CAG ACC CAG CCG AGC AAA Thr Val Lys Thr Lys Asn Thr Thr Thr Gln Thr Gln Pro Ser Lys	48
1 5 10 15	
CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC AAA CCG AAC AAC Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn Lys Pro Asn Asn	96
20 25 30	

GAT	TTC	CAT	TTC	GAA	GTG	TTC	AAC	TTC	GTG	CCG	AGC	AGC	ATC	TGC	AGC	144
Asp	Phe	His	Phe	Glu	Val	Phe	Asn	Phe	Val	Pro	Ser	Ser	Ile	Cys	Ser	
35								40						45		
AAC	AAC	CCG	ACC	TGC	TGG	GCG	ATC	AGC	AAA	CGT	ATC	CCG	AAC	AAA	AAA	192
Asn	Asn	Pro	Thr	Cys	Trp	Ala	Ile	Ser	Lys	Arg	Ile	Pro	Asn	Lys	Lys	
50								55					60			
CCG	GGC	AAA	AAA	ACC	ACG	ACC	AAA	CCG	ACC	AAA	AAA	CCG	ACC	TTC	AAA	240
Pro	Gly	Lys	Lys	Thr	Thr	Thr	Lys	Pro	Thr	Lys	Lys	Pro	Thr	Phe	Lys	
65								70					75		80	
ACC	ACC	AAA	AAA	GAT	CAT	AAA	CCG	CAG	ACC	ACC	AAA	CCG	AAA	GAA	GTG	288
Thr	Thr	Lys	Lys	Asp	His	Lys	Pro	Gln	Thr	Thr	Lys	Pro	Lys	Glu	Val	
85									90					95		
CCG	ACC	ACC	AAA	CCG												303
Pro	Thr	Thr	Lys	Pro												
			100													

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 4:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 303 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..303

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

ACC	GCG	CAG	ACC	AAA	GGC	CGT	ATC	ACC	ACC	AGC	ACC	CAG	ACC	AAC	AAA	48
Thr	Ala	Gln	Thr	Lys	Gly	Arg	Ile	Thr	Thr	Ser	Thr	Gln	Thr	Asn	Lys	
1					5				10				15			
CCG	AGC	ACC	AAA	AGC	CGT	AGC	AAA	AAC	CCG	CCG	AAA	AAA	CCG	AAA	GAT	96
Pro	Ser	Thr	Lys	Ser	Arg	Ser	Lys	Asn	Pro	Pro	Lys	Lys	Pro	Lys	Asp	
20									25				30			

GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCC AGC AGC ATC TGC GGC	144
Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys Gly	
35 40 45	
AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA ACC ATC CCG AGC AAC AAA	192
Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys Thr Ile Pro Ser Asn Lys	
50 55 60	
CCG AAA AAG AAA CCG ACC ATC AAA CCG ACC AAC AAA CCG ACC ACC AAA	240
Pro Lys Lys Lys Pro Thr Ile Lys Pro Thr Asn Lys Pro Thr Thr Lys	
65 70 75 80	
ACC ACC AAC AAA CGT GAT CCG AAA ACC CCG GCG AAA ATG CCG AAG AAG	288
Thr Thr Asn Lys Arg Asp Pro Lys Thr Pro Ala Lys Met Pro Lys Lys	
85 90 95	
GAA ATC ATC ACC AAC	303
Glu Ile Ile Thr Asn	
100	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 5:

(i) CARACTÉRISTIQUES DE LA SÉQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 42 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: CDS
(B) EMPLACEMENT: 1..42

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA
Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys
1 5 10

(2) INFORMATIONS POUR LA SEO TD NO: 6:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 42 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADNc

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..42

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 6:

AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA
Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys
1 5 10

42

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 7:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 42 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..42

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 7:

AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA
Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys
1 5 10

42

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 8:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 42 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..42

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 8:

AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA
 Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys
 1 5 10

42

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 9:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 14 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B) EMPLACEMENT: 9
- (D) AUTRES INFORMATIONS: /Xaa signifie Orn

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 9:

Ser Ile Asp Ser Asn Asn Pro Thr Xaa Trp Ala Ile Cys Lys
 1 5 10

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 10:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 14 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B) EMPLACEMENT: 9
- (D) AUTRES INFORMATIONS:/Xaa signifie Orn

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 10:

Ser Ile Asp Gly Asn Asn Gln Leu Xaa Lys Ser Ile Cys Lys
1 5 10

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 11:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 14 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B) EMPLACEMENT: 9
- (D) AUTRES INFORMATIONS:/Xaa signifie Orn

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 11:

Ser Ile Asp Ser Asn Asn Pro Thr Xaa Trp Ala Ile Ser Lys
1 5 10

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 12:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 14 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B) EMPLACEMENT: 9
- (D) AUTRES INFORMATIONS:/Xaa signifie Orn

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 12:

Ser Ile Asp Gly Asn Asn Gln Leu Xaa Lys Ser Ile Ser Lys
 1 5 10

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 13:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 48 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..48

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 13:

AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC AAA CCG 48
 Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn Lys Pro
 1 5 10 15

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 14:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 303 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..303

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 14:

ACC GTG AAA ACC AAA AAC ACC ACG ACC ACC CAG ACC CAG CCG AGC AAA	48
Thr Val Lys Thr Lys Asn Thr Thr Thr Gln Thr Gln Pro Ser Lys	
1 5 10 15	
CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC AAA CCG AAC AAC	96
Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn Lys Pro Asn Asn	
20 25 30	
GAT TCC CAT TCC GAA GTG TCC AAC TCC GTG CCG AGC AGC ATC TGC AGC	144
Asp Ser His Ser Glu Val Ser Asn Ser Val Pro Ser Ser Ile Cys Ser	
35 40 45	
AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA CGT ATC CCG AAC AAA AAA	192
Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys Arg Ile Pro Asn Lys Lys	
50 55 60	
CCG GGC AAA AAA ACC ACG ACC AAA CCG ACC AAA AAA CCG ACC TTC AAA	240
Pro Gly Lys Lys Thr Thr Lys Pro Thr Lys Lys Pro Thr Phe Lys	
65 70 75 80	
ACC ACC AAA AAA GAT CAT AAA CCG CAG ACC ACC AAA CCG AAA GAA GTG	288
Thr Thr Lys Lys Asp His Lys Pro Gln Thr Thr Lys Pro Lys Glu Val	
85 90 95	
CCG ACC ACC AAA CCG	
Pro Thr Thr Lys Pro	
100	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 15:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 51 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..51

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 15:

GTG CCG TGC AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC
 Val Pro Cys Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys
 1 5 10 15

AAA
Lys 51

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 16:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 51 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: CDS
(B)EMPLACEMENT:1..51

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 16:

GTG CCG AGC AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC
Val Pro Ser Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser
1 5 10 15

AAA
Lys 51

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 17:

(i) CARACTÉRISTIQUES DE LA SÉQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 51 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..51

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 17:

GTG CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC TGC	48		
Val Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys			
1	5	10	15
AAA			51
Lys			

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 18:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 51 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..51

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 18:

GTG CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC AGC	48		
Val Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser			
1	5	10	15
AAA			51
Lys			

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 19:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 17 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B) EMPLACEMENT:12
- (D) AUTRES INFORMATIONS:/Xaa signifie Orn

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B) EMPLACEMENT:16
- (D) AUTRES INFORMATIONS:/Xaa signifie Orn

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 19:

Val Pro Asp Ser Ile Asp Ser Asn Asn Pro Thr Xaa Trp Ala Ile Xaa
1 5 10 15

Lys

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 20:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 17 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B) EMPLACEMENT:12
- (D) AUTRES INFORMATIONS:/Xaa signifie Orn

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 20:

Val Pro Ser Ser Ile Asp Ser Asn Asn Pro Thr Xaa Trp Ala Ile Ser
1 5 10 15

Lys

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 21:

(i) CARACTÉRISTIQUES DE LA SÉQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 17 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTÉRISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B)EMPLACEMENT:12
- (D) AUTRES INFORMATIONS:/Xaa signifie Orn

(ix) CARACTÉRISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B)EMPLACEMENT:16
- (D) AUTRES INFORMATIONS:/Xaa signifie Orn

(xi) DESCRIPTION DE LA SÉQUENCE: SEQ ID NO: 21:

Val	Pro	Asp	Ser	Ile	Asp	Gly	Asn	Asn	Gln	Leu	Xaa	Lys	Ser	Ile	Xaa
1					5					10				15	
Lys															

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 22:

(i) CARACTÉRISTIQUES DE LA SÉQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 17 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTÉRISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B)EMPLACEMENT:12
- (D) AUTRES INFORMATIONS:/Xaa signifie Orn

(xi) DESCRIPTION DE LA SÉQUENCE: SEQ ID NO: 22:

Val	Pro	Ser	Ser	Ile	Asp	Gly	Asn	Asn	Gln	Leu	Xaa	Lys	Ser	Ile	Ser
1				5					10				15		

Lys

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 23:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 183 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..183

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 23:

CAG	ACC	CAG	CCG	AGC	AAA	CCG	ACC	ACC	AAA	CAG	CGT	CAG	AAC	AAA	CCG	48
Gln	Thr	Gln	Pro	Ser	Lys	Pro	Thr	Thr	Lys	Gln	Arg	Gln	Asn	Lys	Pro	
1		5				10				15						

CCG	AAC	AAA	CCG	AAC	AAC	GAT	TTC	CAT	TTC	GAA	GTG	TTC	AAC	TTC	GTG	96
Pro	Asn	Lys	Pro	Asn	Asn	Asp	Phe	His	Phe	Glu	Val	Phe	Asn	Phe	Val	
			20				25				30					

CCG	TGC	AGC	ATC	TGC	AGC	AAC	CCG	ACC	TGC	TGG	GCG	ATC	TGC	AAA	144	
Pro	Cys	Ser	Ile	Cys	Ser	Asn	Asn	Pro	Thr	Cys	Trp	Ala	Ile	Cys	Lys	
	35				40					45						

CGT	ATC	CCG	AAC	AAA	AAA	CCG	GCC	AAA	AAA	ACC	ACG	ACC	183
Arg	Ile	Pro	Asn	Lys	Lys	Pro	Gly	Lys	Lys	Thr	Thr	Thr	
	50				55				60				

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 24:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 177 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..177

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 24:

CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG	48
Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro	
1 5 10 15	
CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCG TGC AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA	144
Pro Cys Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys	
35 40 45	
CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG GGC AAA AAA ACC	177
Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro Gly Lys Lys Thr	
50 55	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 25:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 171 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..171

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 25:

CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG	48
Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro	
1 5 10 15	

45

CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20	25
	30
CCG TGC AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA	144
Pro Cys Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys	
35	40
	45
CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG GGC AAA	171
Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro Gly Lys	
50	55

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 26:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 165 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..165

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 26:

CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG	48
Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro	
1	5
	10
	15

CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20	25
	30

CCG TGC AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA	144
Pro Cys Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys	
35	40
	45

CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG	165
Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro	
50	55

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 27:

(i) CARACTÉRISTIQUES DE LA SÉQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 159 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: CDS
(B) EMPLACEMENT: 1..159

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 27:

CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG	48
Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro	
1 5 10 15	
CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCG TGC AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA	144
Pro Cys Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys	
35 40 45	
CGT ATC CCG AAC AAA	159
Arg Ile Pro Asn Lys	
50	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 28:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 153 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTÉRISTIQUE:
(A) NOM/CLE: CDS
(B) EMPLACEMENT: 1..153

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 28:

CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG	48
Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro	
1 5 10 15	
CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCG TGC AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA	144
Pro Cys Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys	
35 40 45	
CGT ATC CCG	153
Arg Ile Pro	
50	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 29:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 99 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..99

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 29:

AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCG TGC	48
Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys	
1 5 10 15	
AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA CGT ATC	96
Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys Arg Ile	
20 25 30	
CCG	99
Pro	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 30:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 183 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..183

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 30:

CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG	48
Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro	
1 5 10 15	
CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCG AGC AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA	144
Pro Ser Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys	
35 40 45	
CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG GGC AAA AAA ACC ACG ACC	183
Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro Gly Lys Lys Thr Thr Thr	
50 55 60	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 31:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 177 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..177

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 31:

CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG	48
Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro	
1 5 10 15	
CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCG AGC AGC ATC TGC AGC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA	144
Pro Ser Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys	
35 40 45	
CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG GGC AAA AAA ACC	177
Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro Gly Lys Lys Thr	
50 55	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 32:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 171 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..171

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 32:

CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG	48
Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro	
1 5 10 15	
CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCG AGC AGC ATC TGC AGC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA	144
Pro Ser Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys	
35 40 45	

CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG GGC AAA
 Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro Gly Lys
 50 55

171

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 33:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 165 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:
 (A) NOM/CLE: CDS
 (B) EMPLACEMENT: 1..165

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 33:

CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CCG CAG AAC AAA CCG	48
Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro	
1 5 10 15	
CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCG AGC AGC ATC TGC AGC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC ACC AAA	144
Pro Ser Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys	
35 40 45	
CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG	165
Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro	
50 55	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 34:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 159 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..159

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 34:

CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG	48
Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro	
1 5 10 15	
CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCG AGC AGC ATC TGC AGC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA	144
Pro Ser Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys	
35 40 45	
CGT ATC CCG AAC AAA	159
Arg Ile Pro Asn Lys	
50	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 35:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 153 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..153

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 35:

CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG	48
Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro	
1 5 10 15	

CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCG AGC AGC ATC TGC AGC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA	144
Pro Ser Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys	
35 40 45	
CGT ATC CCG	153
Arg Ile Pro	
50	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 36:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 99 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..99

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 36:

AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCG AGC	48
Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser	
1 5 10 15	
AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA CGT ATC	96
Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys Arg Ile	
20 25 30	
CCG	99
Pro	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 37:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 183 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: CDS

(B) **EMPLACEMENT:** 1. . 183

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 37:

AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG
 Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro
 1 5 10 15

CCG AAA AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG
Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val
20 25 30 96

CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA
 Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys
 35 40 45

ACC ATC CCG AGC AAC AAA CCG AAA AAG AAA CCG ACC ATC 183
Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro Lys Lys Lys Pro Thr Ile
50 55 60

(2) INFORMATIONS POUR LA SEO ID NO: 38:

(i) CARACTÉRISTIQUES DE LA SÉQUENCE:

(A) LONGUEUR: 177 paires de bases

(B) TYPE: nucléotide

(C) VILLE: Nantes

(C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTÉRISTIQUE.

(A) NOM/CLE: CDS

(B) EMPLEMENT: 1 172

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 38:

AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG 48
Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro
1 5 10 15

CCG AAA AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA	144
Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys	
35 40 45	
ACC ATC CCG AGC AAC AAA CCG AAA AAG AAA CCG	177
Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro Lys Lys Pro	
50 55	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 39:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 171 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire
- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADN
- (ix) CARACTERISTIQUE:
 - (A) NOM/CLE: CDS
 - (B) EMPLACEMENT: 1..171

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 39:

AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG	48
Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro	
1 5 10 15	
CCG AAA AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA	144
Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys	
35 40 45	
ACC ATC CCG AGC AAC AAA CCG AAA AAG	171
Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro Lys Lys	
50 55	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 40:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 165 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..165

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 40:

AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG	48
Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro	
1 5 10 15	
CCG AAA AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA	144
Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys	
35 40 45	
ACC ATC CCG AGC AAC AAA CCG	165
Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro	
50 55	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 41:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 159 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..159

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 41:

AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG	48
Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro	
1 5 10 15	
CCG AAA AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA	144
Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys	
35 40 45	
ACC ATC CCG AGC AAC	159
Thr Ile Pro Ser Asn	
50	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 42:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 153 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..153

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 42:

AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG	48
Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro	
1 5 10 15	
CCG AAA AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	

CCC TGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA
 Pro Cys Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys 144
 35 40 45

ACC ATC CCG
 Thr Ile Pro 153
 50

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 43:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 99 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:
 (A) NOM/CLE: CDS
 (B) EMPLACEMENT: 1..99

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 43:

AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCC TGC 48
 Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Cys
 1 5 10 15

AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC TGC AAA ACC ATC 96
 Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Cys Lys Thr Ile
 20 25 30

CCG 99
 Pro

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 44:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 183 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..183

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 44:

AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG	48
Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro	
1 5 10 15	
CCG AAA AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA	144
Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys	
35 40 45	
ACC ATC CCG AGC AAC AAA CCG AAA AAG AAA CCG ACC ATC	183
Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro Lys Lys Pro Thr Ile	
50 55 60	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 45:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 177 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..177

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 45:

AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG	48
Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro	
1 5 10 15	
CCG AAA AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	

CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA 144
 Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys
 35 40 45

ACC ATC CCG AGC AAC AAA CCG AAA AAG AAA CCG 177
 Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro Lys Lys Lys Pro
 50 55

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 46:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 171 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:
 (A) NOM/CLE: CDS
 (B) EMPLACEMENT: 1..171

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 46:

AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG 48
 Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro
 1 5 10 15

CCG AAA AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG 96
 Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val
 20 25 30

CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA 144
 Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys
 35 40 45

ACC ATC CCG AGC AAC AAA CCG AAA AAG 171
 Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro Lys Lys
 50 55

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 47:

(i) CARACTÉRISTIQUES DE LA SÉQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 165 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: CDS
(B) EMPLACEMENT: 1..165

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCÉ: SEQ ID NO: 47:

AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG	48
Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro	
1 5 10 15	
CCG AAA AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA	144
Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys	
35 40 45	
ACC ATC CCG AGC AAC AAA CCG	165
Thr Ile Pro Ser Asn Lys Pro	
50 55	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 48:

(i) CARACTÉRISTIQUES DE LA SÉQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 159 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:
(A) NOM/CLE: CDS
(B) EMPLACEMENT:1..159

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 48:

AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG	48
Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro	
1 5 10 15	
50 55 60	
CCG AAA AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	
CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA	144
Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys	
35 40 45	
ACC ATC CCG AGC AAC	159
Thr Ile Pro Ser Asn	
50	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 49:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 153 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..153

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 49:

AGC ACC CAG ACC AAC AAA CCG AGC ACC AAA AGC CGT AGC AAA AAC CCG	48
Ser Thr Gln Thr Asn Lys Pro Ser Thr Lys Ser Arg Ser Lys Asn Pro	
1 5 10 15	
CCG AAA AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG	96
Pro Lys Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val	
20 25 30	

62

CCC AGC AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA 144
 Pro Ser Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys
 35 40 45

ACC ATC CCG 153
 Thr Ile Pro
 50

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 50:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 99 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..99

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 91:

AAA CCG AAA GAT GAT TAC CAC TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCC AGC 48
 Lys Pro Lys Asp Asp Tyr His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser
 1 5 10 15

AGC ATC TGC GGC AAC AAC CAG CTG TGC AAA AGC ATC AGC AAA ACC ATC	96	
Ser Ile Cys Gly Asn Asn Gln Leu Cys Lys Ser Ile Ser Lys Thr Ile		
20	25	30

CCG	99
Pro	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 51:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 303 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..303

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 51:

CAA AAC AGA AAA ATC AAA GGT CAA TCA ACA CTA CCA GCC ACA AGA AAA	48		
Gln Asn Arg Lys Ile Lys Gly Gln Ser Thr Leu Pro Ala Thr Arg Lys			
1	5	10	15

CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT CAA GAC	96	
Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His Gln Asp		
20	25	30

CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC TGC AGT ACA TGT GAA	144	
His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Cys Ser Thr Cys Glu		
35	40	45

GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT ATT GAG ACG GAA AGA GCA	192	
Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys His Ile Glu Thr Glu Arg Ala		
50	55	60

CCA AGC AGA GCA CCA ACA ATC ACC CTC AAA AAG ACA CCA AAA CCA AAA	240		
Pro Ser Arg Ala Pro Thr Ile Thr Leu Lys Lys Thr Pro Lys Pro Lys			
65	70	75	80

ACC ACA AAA AAG CCA ACC AAG ACA ACA ATC CAT CAC AGA ACC AGC CCA	288	
Thr Thr Lys Lys Pro Thr Lys Thr Thr Ile His His Arg Thr Ser Pro		
85	90	95

GAA ACC AAA CTG CAA
 Glu Thr Lys Leu Gln
 100

303

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 52:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 303 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:
 (A) NOM/CLE: CDS
 (B) EMPLACEMENT: 1..303

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 52:

CAA AAC AGA AAA ATC AAA GGT CAA TCA ACA CTA CCA GCC ACA AGA AAA Gln Asn Arg Lys Ile Lys Gly Gln Ser Thr Leu Pro Ala Thr Arg Lys	48
1 5 10 15	
CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA CCA GAA AAC CAT CAA GAC Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro Pro Glu Asn His Gln Asp	96
20 25 30	
CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC AGC AGT ACA TGT GAA His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Ser Ser Thr Cys Glu	144
35 40 45	
GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT ATT GAG ACG GAA AGA GCA Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser His Ile Glu Thr Glu Arg Ala	192
50 55 60	
CCA AGC AGA GCA CCA ACA ATC ACC CTC AAA AAG ACA CCA AAA CCA AAA Pro Ser Arg Ala Pro Thr Ile Thr Leu Lys Lys Thr Pro Lys Pro Lys	240
65 70 75 80	
ACC ACA AAA AAG CCA ACC AAG ACA ACA ATC CAT CAC AGA ACC AGC CCA Thr Thr Lys Lys Pro Thr Lys Thr Thr Ile His His Arg Thr Ser Pro	288
85 90 95	

GAA ACC AAA CTG CAA
 Glu Thr Lys Leu Gln
 100

303

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 53:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 183 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:
 (A) NOM/CLE: CDS
 (B) EMPLACEMENT: 1..183

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 53:

CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA
 Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro
 1 5 10 15

48

CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT
 Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val
 20 25 30

96

CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT
 Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys His
 35 40 45

144

ATT GAG ACG GAA AGA GCA CCA AGC AGA GCA CCA ACA ATC
 Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro Ser Arg Ala Pro Thr Ile
 50 55 60

183

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 54:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 177 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..177

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 54:

CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA	48
Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro	
1 5 10 15	
CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT	96
Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val	
20 25 30	
CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT	144
Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys His	
35 40 45	
ATT GAG ACG GAA AGA GCA CCA AGC AGA GCA CCA	177
Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro Ser Arg Ala Pro	
50 55	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 55:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 171 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..171

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 55:

CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA	48
Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro	
1 5 10 15	

CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT	96	
Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val		
20	25	30
CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT	144	
Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys His		
35	40	45
ATT GAG ACG GAA AGA GCA CCA AGC AGA	171	
Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro Ser Arg		
50	55	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 56:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 165 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire
- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

- (ix) CARACTERISTIQUE:
 - (A) NOM/CLE: CDS
 - (B) EMPLACEMENT: 1..165

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 56:

CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA	48		
Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro			
1	5	10	15
CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT	96		
Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val			
20	25	30	
CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT	144		
Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys His			
35	40	45	
ATT GAG ACG GAA AGA GCA CCA	165		
Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro			
50	55		

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 57:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 159 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..159

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 57:

CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA	48
Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro	
1 5 10 15	
CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT	96
Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val	
20 25 30	
CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT	144
Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys His	
35 40 45	
ATT GAG ACG GAA AGA	159
Ile Glu Thr Glu Arg	
50	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 58:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 153 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..153

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 58:

CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA	48
Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro	
1 5 10 15	
CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT	96
Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val	
20 25 30	
CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT	144
Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys His	
35 40 45	
ATT GAG ACG	153
Ile Glu Thr	
50	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 59:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 99 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..99

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 59:

AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC TGC	48
Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Cys	
1 5 10 15	
AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT ATT GAG	96
Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys His Ile Glu	
20 25 30	
ACG	99
Thr	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 60:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 183 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..183

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 60:

CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA	48
Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro	
1 5 10 15	
CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT	96
Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val	
20 25 30	
CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT	144
Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser His	
35 40 45	
ATT GAG ACG GAA AGA GCA CCA AGC AGA GCA CCA ACA ATC	183
Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro Ser Arg Ala Pro Thr Ile	
50 55 60	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 61:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 177 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..177

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 61:

CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA 48
 Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro
 1 5 10 15

CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT 96
 Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val
 20 25 30

CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT 144
 Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser His
 35 40 45

ATT GAG ACG GAA AGA GCA CCA AGC AGA GCA CCA 177
 Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro Ser Arg Ala Pro
 50 55

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 62:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 171 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

(A) NOM/CLE: CDS
(B)EMPLACEMENT:1..171

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 62:

CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA	48			
Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro				
1	5	10	15	
CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT	96			
Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val				
20	25	30		
CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT	144			
Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser His				
35	40	45		

ATT GAG ACG GAA AGA GCA CCA AGC AGA
 Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro Ser Arg
 50 55

171

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 63:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 165 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:
 (A) NOM/CLE: CDS
 (B) EMPLACEMENT: 1..165

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 63:

CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA
 Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro
 1 5 10 15

48

CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT
 Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val
 20 25 30

96

CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT
 Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser His
 35 40 45

144

ATT GAG ACG GAA AGA GCA CCA
 Ile Glu Thr Glu Arg Ala Pro
 50 55

165

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 64:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 159 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..159

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 64:

CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA	48
Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro	
1 5 10 15	
CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT	96
Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val	
20 25 30	
CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT	144
Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser His	
35 40 45	
ATT GAG ACG GAA AGA	159
Ile Glu Thr Glu Arg	
50	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 65:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 153 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..153

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 65:

CTA CCA GCC ACA AGA AAA CCA CCA ATT AAT CCA TCA GGA AGC ATC CCA	48
Leu Pro Ala Thr Arg Lys Pro Pro Ile Asn Pro Ser Gly Ser Ile Pro	
1 5 10 15	

CCA GAA AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT	96
Pro Glu Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val	
20 25 30	
CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT	144
Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser His	
35 40 45	
ATT GAG ACG	153
Ile Glu Thr	
50	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 66:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 99 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..99

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 66:

AAC CAT CAA GAC CAC AAC AAC TTC CAA ACA CTC CCC TAT GTT CCC AGC	48
Asn His Gln Asp His Asn Asn Phe Gln Thr Leu Pro Tyr Val Pro Ser	
1 5 10 15	
AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT ATT GAG	96
Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser His Ile Glu	
20 25 30	
ACG	99
Thr	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 67:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 51 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..51

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 67:

GTT CCC TGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC TGC
 Val Pro Cys Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys
 1 5 10 15

48

CAT
 His

51

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 68:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 51 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..51

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 68:

GTT CCC AGC AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC
 Val Pro Ser Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser
 1 5 10 15

48

CAT
 His

51

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 69:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 17 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B) EMPLACEMENT: 12
- (D) AUTRES INFORMATIONS:/Xaa signifie Orn

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B) EMPLACEMENT: 16
- (D) AUTRES INFORMATIONS:/Xaa signifie Orn

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 69:

Val	Pro	Asp	Ser	Thr	Asp	Glu	Gly	Asn	Leu	Ala	Xaa	Leu	Ser	Leu	Xaa
1					5					10					15

His

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 70:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 17 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B) EMPLACEMENT: 12
- (D) AUTRES INFORMATIONS:/Xaa signifie Orn

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 70:

Val Pro Ser Ser Thr Asp Glu Gly Asn Leu Ala Xaa Leu Ser Leu Ser
1 5 10 15

His

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 71:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 42 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..42

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 71:

AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC TGC CAT
Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Cys His
1 5 10

42

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 72:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 42 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT:1..42

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 72:

AGT ACA TGT GAA GGT AAT CTT GCA TGC TTA TCA CTC AGC CAT
 Ser Thr Cys Glu Gly Asn Leu Ala Cys Leu Ser Leu Ser His
 1 5 10

42

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 73:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 14 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: peptide

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: Modified-site
- (B) EMPLACEMENT: 9
- (C) AUTRES INFORMATIONS: /Xaa signifie Orn

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 73:

Ser Thr Asp Glu Gly Asn Leu Ala Xaa Leu Ser Leu Ser His
 1 5 10

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 74:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 657 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..657

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 74:

AAA TAT GGA GTA AGT GAC TAT TAC AAG AAT CTA ATC AAC AAT GCC AAA
 Lys Tyr Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Asn Ala Lys
 1 5 10 15

48

ACT GTT GAA GGC GTA AAA GAC CTT CAA GCA CAA GTT GAA TCA GCG	96
Thr Val Glu Gly Val Lys Asp Leu Gln Ala Gln Val Val Glu Ser Ala	
20 25 30	
AAG AAA GCG CGT ATT TCA GAA GCA ACA GAT GGC TTA TCT GAT TTC TTG	144
Lys Lys Ala Arg Ile Ser Glu Ala Thr Asp Gly Leu Ser Asp Phe Leu	
35 40 45	
AAA TCA CAA ACA CCT GCT GAA GAT ACT GTT AAA TCA ATT GAA TTA GCT	192
Lys Ser Gln Thr Pro Ala Glu Asp Thr Val Lys Ser Ile Glu Leu Ala	
50 55 60	
GAA GCT AAA GTC TTA GCT AAC AGA GAA CTT GAC AAA TAT GGA GTA AGT	240
Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser	
65 70 75 80	
GAC TAT CAC AAG AAC CTA ATC AAC AAT GCC AAA ACT GTT GAA GGT GTA	288
Asp Tyr His Lys Asn Leu Ile Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu Gly Val	
85 90 95	
AAA GAC CTT CAA GCA CAA GTT GAA TCA GCG AAG AAA GCG CGT ATT	336
Lys Asp Leu Gln Ala Gln Val Val Glu Ser Ala Lys Lys Ala Arg Ile	
100 105 110	
TCA GAA GCA ACA GAT GGC TTA TCT GAT TTC TTG AAA TCA CAA ACA CCT	384
Ser Glu Ala Thr Asp Gly Leu Ser Asp Phe Leu Lys Ser Gln Thr Pro	
115 120 125	
GCT GAA GAT ACT GTT AAA TCA ATT GAA TTA GCT GAA GCT AAA GTC TTA	432
Ala Glu Asp Thr Val Lys Ser Ile Glu Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu	
130 135 140	
GCT AAC AGA GAA CTT GAC AAA TAT GGA GTA AGT GAC TAT TAC AAC AAC	480
Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn	
145 150 155 160	
CTA ATC AAC AAT GCC AAA ACT GTT GAA GGT GTA AAA GCA CTG ATA GAT	528
Leu Ile Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Lys Ala Leu Ile Asp	
165 170 175	
GAA ATT TTA GCT GCA TTA CCT AAG ACT GAC ACT TAC AAA TTA ATC CTT	576
Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro Lys Thr Asp Thr Tyr Lys Leu Ile Leu	
180 185 190	
AAT GGT AAA ACA TTG AAA GGC GAA ACA ACT ACT GAA GCT GTT GAT GCT	624
Asn Gly Lys Thr Leu Lys Gly Glu Thr Thr Glu Ala Val Asp Ala	
195 200 205	

GCT ACT GCA AGA TCT TTC AAT TTC CCT ATC CTC
 Ala Thr Ala Arg Ser Phe Asn Phe Pro Ile Leu
 210 215

657

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 75:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 324 paires de bases
- (B) TYPE: nucléotide
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:

- (A) NOM/CLE: CDS
- (B) EMPLACEMENT: 1..324

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 75:

AAA TAT GGA GTA AGT GAC TAT CAC AAG AAC CTA ATC AAC AAT GCC AAA
 Lys Tyr Gly Val Ser Asp Tyr His Lys Asn Leu Ile Asn Asn Ala Lys
 1 5 10 15

48

ACT GTT GAA GGT GTA AAA GAC CTT CAA GCA CAA GTT GTT GAA TCA GCG
 Thr Val Glu Gly Val Lys Asp Leu Gln Ala Gln Val Val Glu Ser Ala
 20 25 30

96

AAG AAA GCG CGT ATT TCA GAA GCA ACA GAT GGC TTA TCT GAT TTC TTG
 Lys Lys Ala Arg Ile Ser Glu Ala Thr Asp Gly Leu Ser Asp Phe Leu
 35 40 45

144

AAA TCA CAA ACA CCT GCT GAA GAT ACT GTT AAA TCA ATT GAA TTA GCT
 Lys Ser Gln Thr Pro Ala Glu Asp Thr Val Lys Ser Ile Glu Leu Ala
 50 55 60

192

GAA GCT AAA GTC TTA GCT AAC AGA GAA CTT GAC AAA TAT GGA GTA AGT
 Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser
 65 70 75 80

240

GAC TAT TAC AAG AAC CTA ATC AAC AAT GCC AAA ACT GTT GAA GGT GTA
 Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu Gly Val
 85 90 95

288

GCC AAA ACT GTT GAA GGT GTA AAA GAC CTT CAA GCA CAA GTT GTT GAA Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Lys Asp Leu Gln Ala Gln Val Val Glu 115 120 125	384
TCA GCG AAG AAA GCG CGT ATT TCA GAA GCA ACA GAT GGC TTA TCT GAT Ser Ala Lys Lys Ala Arg Ile Ser Glu Ala Thr Asp Gly Leu Ser Asp 130 135 140	432
TTC TTG AAA TCA CAA ACA CCT GCT GAA GAT ACT GTT AAA TCA ATT GAA Phe Leu Lys Ser Gln Thr Pro Ala Glu Asp Thr Val Lys Ser Ile Glu 145 150 155 160	480
TTA GCT GAA GCT AAA GTC TTA GCT AAC AGA GAA CTT GAC AAA TAT GGA Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly 165 170 175	528
GTA AGT GAC TAT TAC AAG AAC CTA ATC AAC AAT GCC AAA ACT GTT GAA Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu 180 185 190	576
GGT GTA AAA GCA CTG ATA GAT GAA ATT TTA GCT GCA TTA CCT AAG ACT Gly Val Lys Ala Leu Ile Asp Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro Lys Thr 195 200 205	624
GAC ACT TAC AAA TTA ATC CTT AAT GGT AAA ACA TTG AAA GGC GAA ACA Asp Thr Tyr Lys Leu Ile Leu Asn Gly Lys Thr Leu Lys Gly Glu Thr 210 215 220	672
ACT ACT GAA GCT GTT GAT GCT GCT ACT GCA AGA TCT TTC AAT TTC CCT Thr Thr Glu Ala Val Asp Ala Ala Thr Ala Arg Ser Phe Asn Phe Pro 225 230 235 240	720
ATC CTC GAG AAT TCC ATG ACC GTG AAA ACC AAA AAC ACC ACG ACC ACC Ile Leu Glu Asn Ser Met Thr Val Lys Thr Lys Asn Thr Thr Thr 245 250 255	768
CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro 260 265 270	816
CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His Phe Glu Val Phe Asn Phe Val 275 280 285	864
CCG TGC AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG ACC TGC TGG GCG ATC TGC AAA Pro Cys Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro Thr Cys Trp Ala Ile Cys Lys 290 295 300	912

CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG GGC AAA AAA ACC ACG ACC AAA CCG ACC	960
Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro Gly Lys Lys Thr Thr Thr Lys Pro Thr	
305 310 315 320	
AAA AAA CCG ACC TTC AAA ACC ACC AAA AAA GAT CAT AAA CCG CAG ACC	1008
Lys Lys Pro Thr Phe Lys Thr Thr Lys Lys Asp His Lys Pro Gln Thr	
325 330 335	
ACC AAA CCG AAA GAA GTG CCG ACC ACC AAA CCG GTC GAC TAA	1050
Thr Lys Pro Lys Glu Val Pro Thr Thr Lys Pro Val Asp	
340 345	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 77:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 1071 paires de bases
 - (B) TYPE: nucléotide
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire
- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADN
- (ix) CARACTERISTIQUE:
 - (A) NOM/CLE: CDS
 - (B) EMPLACEMENT: 1..1071

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 77:

ATG AAA GCA ATT TTC GTA CTG AAT GCG CAA CAC GAT GAA GCC GTA GAC	48
Met Lys Ala Ile Phe Val Leu Asn Ala Gln His Asp Glu Ala Val Asp	
1 5 10 15	
GGG AAT TTC GAC CAA TTC AAC AAA TAT GGA GTA ACT GAC TAT TAC AAG	96
Ala Asn Phe Asp Gln Phe Asn Lys Tyr Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys	
20 25 30	
AAT CTA ATC AAC AAT GCC AAA ACT GTT GAA GGC GTA AAA GAC CTT CAA	144
Asn Leu Ile Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Lys Asp Leu Gln	
35 40 45	
GCA CAA GTT GTT GAA TCA GCG AAG AAA GCG CGT ATT TCA GAA GCA ACA	192
Ala Gln Val Val Glu Ser Ala Lys Lys Ala Arg Ile Ser Glu Ala Thr	
50 55 60	

GAT GGC TTA TCT GAT TTC TTG AAA TCA CAA ACA CCT GCT GAA GAT ACT	240
Asp Gly Leu Ser Asp Phe Leu Lys Ser Gln Thr Pro Ala Glu Asp Thr	
65 70 75 80	
GTT AAA TCA ATT GAA TTA GCT GAA GCT AAA GTC TTA GCT AAC AGA GAA	288
Val Lys Ser Ile Glu Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu	
85 90 95	
CTT GAC AAA TAT GGA GTA AGT GAC TAT CAC AAG AAC CTA ATC AAC AAT	336
Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser Asp Tyr His Lys Asn Leu Ile Asn Asn	
100 105 110	
GCC AAA ACT GTT GAA GGT GTA AAA GAC CTT CAA GCA CAA GTT GTT GAA	384
Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Lys Asp Leu Gln Ala Gln Val Val Glu	
115 120 125	
TCA GCG AAG AAA GCG CGT ATT TCA GAA GCA ACA GAT GGC TTA TCT GAT	432
Ser Ala Lys Lys Ala Arg Ile Ser Glu Ala Thr Asp Gly Leu Ser Asp	
130 135 140	
TTC TTG AAA TCA CAA ACA CCT GCT GAA GAT ACT GTT AAA TCA ATT GAA	480
Phe Leu Lys Ser Gln Thr Pro Ala Glu Asp Thr Val Lys Ser Ile Glu	
145 150 155 160	
TTA GCT GAA GCT AAA GTC TTA GCT AAC AGA GAA CTT GAC AAA TAT GGA	528
Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly	
165 170 175	
GTA AGT GAC TAT TAC AAG AAC CTA ATC AAC AAT GCC AAA ACT GTT GAA	576
Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu	
180 185 190	
GGT GTA AAA GCA CTG ATA GAT GAA ATT TTA GCT GCA TTA CCT AAG ACT	624
Gly Val Lys Ala Leu Ile Asp Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro Lys Thr	
195 200 205	
GAC ACT TAC AAA TTA ATC CTT AAT GGT AAA ACA TTG AAA GGC GAA ACA	672
Asp Thr Tyr Lys Leu Ile Leu Asn Gly Lys Thr Leu Lys Gly Glu Thr	
210 215 220	
ACT ACT GAA GCT GTT GAT GCT GCT ACT GCA AGA TCT TTC AAT TTC CCT	720
Thr Thr Glu Ala Val Asp Ala Ala Thr Ala Arg Ser Phe Asn Phe Pro	
225 230 235 240	
ATC CTC GAG AAT TCG AGC TCG GTA CCC GGG GAT CCT ATG ACC GTG AAA	768
Ile Leu Glu Asn Ser Ser Ser Val Pro Gly Asp Pro Met Thr Val Lys	
245 250 255	

ACC AAA AAC ACC ACG ACC ACC CAG ACC CAG CCG AGC AAA CCG ACC ACC	816
Thr Lys Asn Thr Thr Thr Gln Thr Gln Pro Ser Lys Pro Thr Thr	
260 265 270	
AAA CAG CGT CAG AAC AAA CCG CCG AAC AAA CCG AAC AAC GAT TTC CAT	864
Lys Gln Arg Gln Asn Lys Pro Pro Asn Lys Pro Asn Asn Asp Phe His	
275 280 285	
TTC GAA GTG TTC AAC TTC GTG CCG AGC AGC ATC TGC AGC AAC AAC CCG	912
Phe Glu Val Phe Asn Phe Val Pro Ser Ser Ile Cys Ser Asn Asn Pro	
290 295 300	
ACC TGC TGG GCG ATC AGC AAA CGT ATC CCG AAC AAA AAA CCG GGC AAA	960
Thr Cys Trp Ala Ile Ser Lys Arg Ile Pro Asn Lys Lys Pro Gly Lys	
305 310 315 320	
AAA ACC ACG ACC AAA CCG ACC AAA AAA CCG ACC TTC AAA ACC ACC AAA	1008
Lys Thr Thr Lys Pro Thr Lys Pro Thr Phe Lys Thr Thr Lys	
325 330 335	
AAA GAT CAT AAA CCG CAG ACC ACC AAA CCG AAA GAA GTG CCG ACC ACC	1056
Lys Asp His Lys Pro Gln Thr Thr Lys Pro Lys Glu Val Pro Thr Thr	
340 345 350	
AAA CCG GTC GAC TAA	1071
Lys Pro Val Asp	
355	

(2) INFORMATIONS POUR LA SEQ ID NO: 78:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 (A) LONGUEUR: 726 paires de bases
 (B) TYPE: nucléotide
 (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN

(ix) CARACTERISTIQUE:
 (A) NOM/CLE: CDS
 (B) EMPLACEMENT:1..726

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 78:

ATG AAA GCA ATT TTC GTA CTG AAT GCG CAA CAC GAT GAA GCC GTA GAC Met Lys Ala Ile Phe Val Leu Asn Ala Gln His Asp Glu Ala Val Asp	48
1 5 10 15	
GGC AAT TTC GAC CAA TTC AAC AAA TAT GGA GTA AGT GAC TAT TAC AAG Ala Asn Phe Asp Gln Phe Asn Lys Tyr Gly Val Ser Asp Tyr Tyr Lys	96
20 25 30	
AAT CTA ATC AAC AAT GCC AAA ACT GTT GAA GGC GTA AAA GAC CTT CAA Asn Leu Ile Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Lys Asp Leu Gln	144
35 40 45	
GCA CAA GTT GTT GAA TCA GCG AAG AAA GCG CGT ATT TCA GAA GCA ACA Ala Gln Val Val Glu Ser Ala Lys Lys Ala Arg Ile Ser Glu Ala Thr	192
50 55 60	
GAT GGC TTA TCT GAT TTC TTG AAA TCA CAA ACA CCT GCT GAA GAT ACT Asp Gly Leu Ser Asp Phe Leu Lys Ser Gln Thr Pro Ala Glu Asp Thr	240
65 70 75 80	
GTT AAA TCA ATT GAA TTA GCT GAA GCT AAA GTC TTA GCT AAC AGA GAA Val Lys Ser Ile Glu Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu	288
85 90 95	
CTT GAC AAA TAT GGA GTA AGT GAC TAT CAC AAG AAC CTA ATC AAC AAT Leu Asp Lys Tyr Gly Val Ser Asp Tyr His Lys Asn Leu Ile Asn Asn	336
100 105 110	
GCC AAA ACT GTT GAA GGT GTA AAA GAC CTT CAA GCA CAA GTT GTT GAA Ala Lys Thr Val Glu Gly Val Lys Asp Leu Gln Ala Gln Val Val Glu	384
115 120 125	
TCA GCG AAG AAA GCG CGT ATT TCA GAA GCA ACA GAT GGC TTA TCT GAT Ser Ala Lys Ala Arg Ile Ser Glu Ala Thr Asp Gly Leu Ser Asp	432
130 135 140	
TTC TTG AAA TCA CAA ACA CCT GCT GAA GAT ACT GTT AAA TCA ATT GAA Phe Leu Lys Ser Gln Thr Pro Ala Glu Asp Thr Val Lys Ser Ile Glu	480
145 150 155 160	
TTA GCT GAA GCT AAA GTC TTA GCT AAC AGA GAA CTT GAC AAA TAT GGA Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly	528
165 170 175	
GTA AGT GAC TAT TAC AAG AAC CTA ATC AAC AAT GCC AAA ACT GTT GAA Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu	576
180 185 190	

GGT GTA AAA GCA CTG ATA GAT GAA ATT TTA GCT GCA TTA CCT AAG ACT 624
Gly Val Lys Ala Leu Ile Asp Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro Lys Thr
195 200 205

GAC ACT TAC AAA TTA ATC CTT AAT GGT AAA ACA TTG AAA GGC GAA ACA 672
Asp Thr Tyr Lys Leu Ile Leu Asn Gly Lys Thr Leu Lys Gly Glu Thr
210 215 220

ACT ACT GAA GCT GTT GAT GCT GCT ACT GCA AGA TCT TTC AAT TTC CCT 720
Thr Thr Glu Ala Val Asp Ala Ala Thr Ala Arg Ser Phe Asn Phe Pro
225 230 235 240

ATC CTC 726
Ile Leu

REVENDICATIONS

1. Procédé pour améliorer l'immunogénicité d'un immunogène, d'un antigène ou d'un haptène, lorsqu'il est administré à un hôte, 5 indépendamment du mode d'administration, caractérisé en ce que ledit antigène ou haptène est couplé de façon covalente à une molécule support, pour former un complexe, et en ce que cette molécule support est un fragment polypeptidique capable de se lier spécifiquement à la sérumalbumine de mammifère.
- 10 2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le fragment polypeptidique est issu de la protéine G du streptocoque.
- 15 3. Procédé selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que la molécule support présente la séquence en acides aminés notée séquence ID n° 74 ou une séquence présentant au moins 80% d'homologie avec ladite séquence ID n° 74.
- 20 4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le couplage covalent est réalisé grâce à la technologie de l'ADN recombinant.
- 25 5. Procédé selon la revendication 4, caractérisé en ce que le complexe est produit par insertion ou fusion dans la molécule d'ADN codant pour le support, de l'ADN codant pour l'antigène ou l'haptène.
- 30 6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que ledit couplage covalent est réalisé par voie chimique.
7. Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce qu'il comprend une étape dans laquelle on introduit dans une cellule hôte un gène de fusion, ledit gène de fusion comprenant une molécule d'ADN hybride produite par insertion ou fusion dans la molécule d'ADN codant pour la molécule support, de l'ADN codant pour l'antigène ou l'haptène, fusionné avec un promoteur.

8. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce qu'on introduit le gène de fusion par l'intermédiaire d'un vecteur d'ADN qui provient d'un plasmide, d'un bactériophage, d'un virus et/ou d'un cosmid.
- 5 9. Procédé selon l'une des revendications 7 ou 8, caractérisé en ce que le gène de fusion est intégré dans le génome de la cellule hôte.
- 10 10. Procédé selon l'une des revendications 7 à 9, caractérisé en ce que la cellule hôte est un procaryote.
11. Procédé selon la revendication 10, caractérisé en ce que la cellule hôte est choisie dans le groupe comprenant : *E. coli*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* et *Streptococcus*.
12. Procédé selon les revendications 7 à 10, caractérisé en ce que la cellule hôte est une levure.
13. Procédé selon les revendications 7 à 9, caractérisé en ce que la cellule hôte est une cellule de mammifère.
14. Procédé selon les revendications 8 et 9, caractérisé en ce que l'on utilise un vecteur viral.
15. Procédé selon l'une des revendications 7 à 12 ou 14, caractérisé en ce que la molécule de fusion est exprimée, ancrée et exposée à la membrane des cellules hôtes.
- 20 16. Procédé selon une quelconque des revendications 1 à 15, caractérisé en ce que l'immunogène est dérivé de bactéries, de parasites et de virus.
- 25 17. Procédé selon une quelconque des revendications 1 à 16, caractérisé en ce que l'immunogène est un haptène : peptide, polysaccharide.

18. Procédé selon la revendication 17, caractérisé en ce que l'immunogène est dérivée d'une glycoprotéine de surface du RSV : F et/ou G.

19. Procédé selon la revendication 18, caractérisé en ce que l'immunogène consiste en la séquence comprise entre les aminos acides 130 et 230 inclus, de la protéine G du RSV humain, sous-groupes A ou B, ou en une séquence présentant au moins 80% d'homologie avec ladite séquence de la protéine G.

20. Procédé selon la revendication 18, caractérisé en ce que l'immunogène consiste en la séquence comprise entre les aminos acides 130 et 230 inclus, de la protéine G du RSV bovin, sous-groupes A ou B, ou en une séquence présentant au moins 80% d'homologie avec ladite séquence de la protéine G.

21. Procédé selon la revendication 18, caractérisé en ce que l'antigène ou l'haptène présente l'une des séquences ID n° : 1 à ID n° : 73.

22. Procédé selon l'une des revendications 16 ou 17, caractérisé en ce que l'immunogène est dérivé de la protéine de surface du virus de l'hépatite A, B et C.

23. Procédé selon l'une des revendications 16 ou 17, caractérisé en ce que l'immunogène est une protéine de surface du virus de la rougeole.

24. Procédé selon l'une des revendications 16 ou 17, caractérisé en ce que l'immunogène est la protéine de surface du parainfluenza virus 3.

25. Procédé selon l'une des revendications 16, 17 ou 24, caractérisé en ce que l'immunogène est une glycoprotéine de surface en particulier hémagglutinine neuraminidase HN et la protéine de fusion F.

26. Procédé selon l'une des revendications 19 à 21, caractérisé en ce que les protéines dérivées de la glycoprotéine G du sous-groupe A et du sous-groupe B RSV sont génétiquement fusionnées ou chimiquement couplées à BB.

27. Complexe susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'une des revendications 1 à 26.

28. Séquence nucléotidique codant pour un complexe selon la revendication 27.

5 29. Séquence nucléotidique selon la revendication 28, caractérisée en ce qu'elle comporte des éléments permettant de cibler l'expression du complexe dans une cellule hôte spécifique.

10 30. Séquence nucléotidique selon l'une des revendications 28 ou 29, caractérisée en ce qu'elle est choisie dans le groupe consistant en les constructions d'ADN et les constructions d'ARN.

31. Séquence selon la revendication 28, caractérisée en ce qu'il s'agit d'un gène de fusion permettant la mise en œuvre du procédé selon l'une des revendications 4, 5 ou 7 à 25.

15 32. Vecteur caractérisé en ce qu'il comprend une séquence nucléotidique selon l'une des revendications 28 à 31.

33. A titre de médicament produit susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'une des revendications 1 à 26 ou vecteur d'ADN selon la revendication 32.

20 34. Utilisation pour la préparation d'un vaccin d'un complexe entre un immunogène et une molécule support susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'une des revendications 1 à 26 ou d'une séquence nucléotidique selon l'une des revendications 28 à 31.

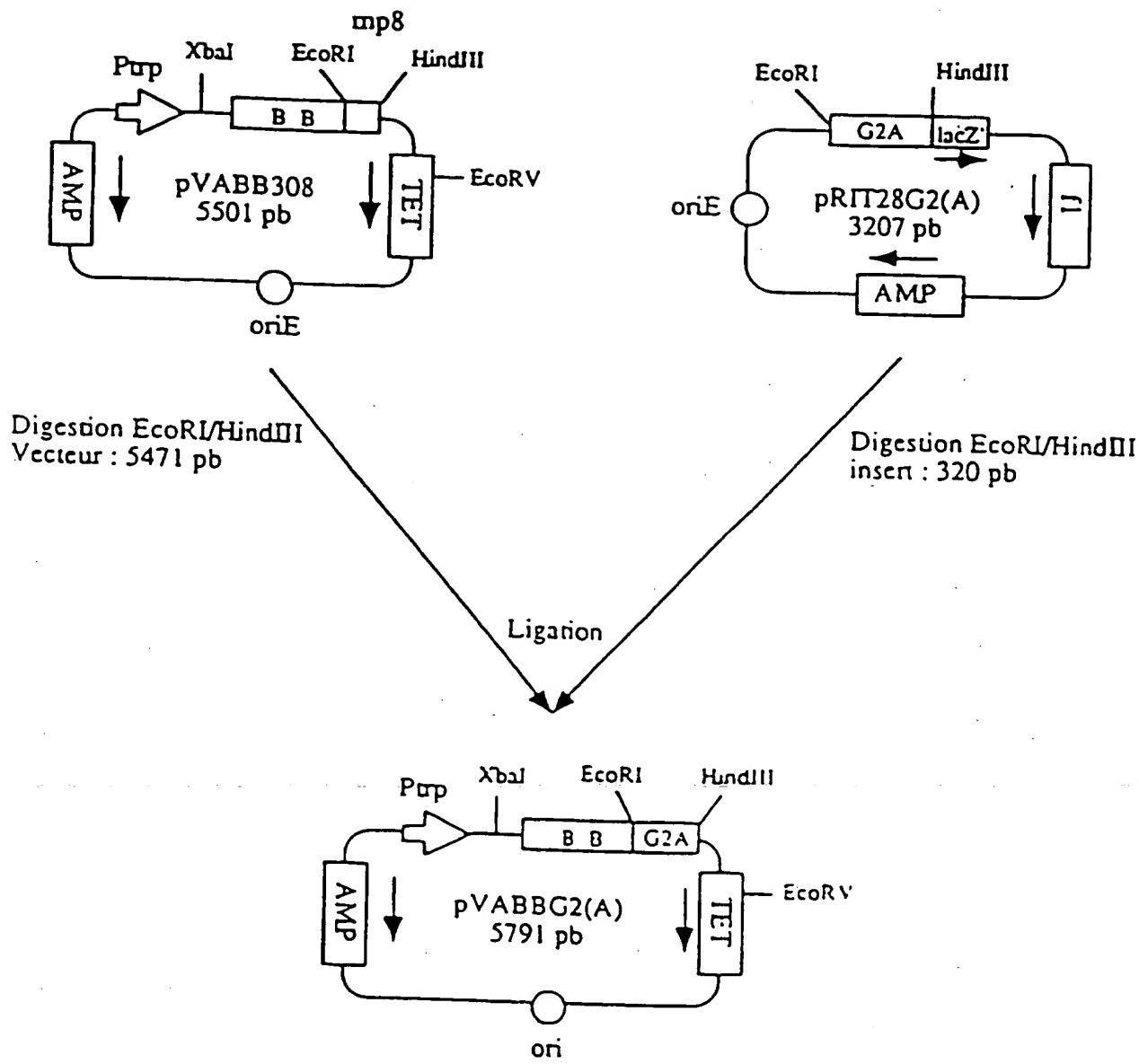


Figure 1

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 6 C12N15/31 C12N15/62 A61K39/385

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
 IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	IMMUNOMETHODS, vol. 2, no. 1, February 1993 pages 79-92, SJÖLANDER ET AL 'BACTERIAL EXPRESSION SYSTEMS BASED ON PROTEIN A AND PROTEIN G DESIGNED FOR THE PRODUCTION OF IMMUNOGENS: APPLICATIONS TO PLASMODIUM FALCIPARUM MALARIA ANTIGENS' see the whole document, mainly page 90 paragraph 5	1-17, 27-34
Y	---	18-26
	-/-	

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *&* document member of the same patent family

2

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
29 February 1996	25.03.96
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl. Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Sitch, W

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	INFECTION AND IMMUNITY, vol. 58, no. 4, April 1990 pages 854-859, SJÖLANDER ET AL 'IMMUNOGENICITY AND ANTIGENICITY IN RABBITS OF A REPEATED SEQUENCE OF PLASMODIUM FALCIPARUM ANTIGEN PF155/RESA FUSED TO TWO IMMUNOGLOBULIN G-BINDING DOMAINS OF STAPHYLOCOCCAL PROTEIN A'	1-17, 27-34
Y	see the whole document ---	18-26
X	DATABASE MEDLINE FILE SERVER STN KARLSRUHE ABRÉGÉ 93202225, SJÖLANDER ET AL 'PLASMODIUM FALCIPARUM: THE IMMUNE RESPONSE IN RABBITS TO THE CLUSTERED ASPARAGINE-RICH PROTEIN (CARP) AFTER IMMUNIZATION IN FREUND'S ADJUVANT OR IMMUNOSTIMULATING COMPLEXES (ISCOMS)' & EXP PARASITOL, (1993 MAR) 76 (2) 134-45	1-17, 27-34
Y	see abstract ---	18-26
X	EP,A,0 327 522 (NYGREN PER AKE ;ABRAHMS LARS (SE); UHLEN MATHIAS (SE)) 9 August 1989	1-17, 27-34
Y	see the whole document ---	18-26
Y	WO,A,93 06218 (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOG) 1 April 1993 see claims 1,11 ---	21,24,25
Y	WO,A,92 01471 (UAB RESEARCH FOUNDATION) 6 February 1992 see page 1, line 19 - page 4, line 7 see page 9, line 6 - line 32 ---	18-21, 25,26
Y	WO,A,91 16926 (NORTH AMERICAN VACCINE INC) 14 November 1991 see page 7, line 15 - page 11, line 18 ---	18-26
Y	US,A,4 415 491 (VYAS GIRISH N) 15 November 1983 see column 8, line 51 - column 9, line 4 ---	21,22,25
A	JOURNAL OF MOLECULAR RECOGNITION, vol. 1, no. 2, April 1988 pages 69-74, NYGREN ET AL 'ANALYSIS AND USE OF THE SERUM ALBUMIN BINDING DOMAINS OF STREPTOCOCCAL PROTEIN G' cited in the application see the whole document ---	
2		-/-

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	DATABASE CHEMICAL ABSTRACTS FILE SERVER STN KARLSRUHE ABSTRACT NO.124:84244, BERZINS ET AL 'IMMUNOGENICITY IN AOTUS MONKEYS OF ISCOM FORMULATED REPEAT SEQUENCES FROM THE PLASMODIUM FALCIPARUM ASEXUAL BLOOD STAGE ANTIGEN PF155/RESA' & VACCINE RES.(1995),4(3),121-33 see abstract	1-17, 27-34
P,Y	-----	18-26

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP-A-0327522	09-08-89	SE-C- AT-T- DE-D- JP-A- SE-A-	501169 131494 68925044 2005887 8800378	28-11-94 15-12-95 25-01-96 10-01-90 06-08-89
WO-A-9306218	01-04-93	AU-B- PT-A- ZA-A-	2566092 100885 9207199	27-04-93 30-11-93 14-06-93
WO-A-9201471	06-02-92	AU-B- AU-B- CA-A- EP-A- HU-A- JP-T- NZ-A- NZ-A-	650040 8330391 2087853 0540645 67362 5509231 239084 250402	09-06-94 18-02-92 25-01-92 12-05-93 28-03-95 22-12-93 27-09-94 28-08-95
WO-A-9116926	14-11-91	AU-B- CA-A- CN-A- EP-A- HU-A- NZ-A-	7777991 2082425 1056816 0597838 65493 238042	27-11-91 08-11-91 11-12-91 25-05-94 28-06-94 23-12-93
US-A-4415491	15-11-83	US-A-	5017558	21-05-91

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
 CIB 6 C12N15/31 C12N15/62 A61K39/385

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
 CIB 6 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications vistes
X	IMMUNOMETHODS, vol. 2, no. 1, Février 1993 pages 79-92, SJOLANDER ET AL 'BACTERIAL EXPRESSION SYSTEMS BASED ON PROTEIN A AND PROTEIN G DESIGNED FOR THE PRODUCTION OF IMMUNOGENS: APPLICATIONS TO PLASMODIUM FALCIPARUM MALARIA ANTIGENS' voir le document en entier, et surtout page 90, alinéa 5	1-17, 27-34
Y	---	18-26
	-/-	

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- 'A' document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- 'E' document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- 'L' document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- 'O' document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- 'P' document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

'T' document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

'X' document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré seulement

'Y' document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

'Z' document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

29 Février 1996

25.03.96

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
 Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
 Fax: (+ 31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Sitch, W

C(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	INFECTION AND IMMUNITY, vol. 58, no. 4, Avril 1990 pages 854-859, SJOLANDER ET AL 'IMMUNOGENICITY AND ANTIGENICITY IN RABBITS OF A REPEATED SEQUENCE OF PLASMODIUM FALCIPARUM ANTIGEN PF155/RESA FUSED TO TWO IMMUNOGLOBULIN G-BINDING DOMAINS OF STAPHYLOCOCCAL PROTEIN A'	1-17, 27-34
Y	voir le document en entier ---	18-26
X	DATABASE MEDLINE FILE SERVER STN KARLSRUHE ABRÉGÉ 93202225, SJÖLANDER ET AL 'PLASMODIUM FALCIPARUM: THE IMMUNE RESPONSE IN RABBITS TO THE CLUSTERED ASPARAGINE-RICH PROTEIN (CARP) AFTER IMMUNIZATION IN FREUND'S ADJUVANT OR IMMUNOSTIMULATING COMPLEXES (ISCOMS)' & EXP PARASITOL, (1993 MAR) 76 (2) 134-45	1-17, 27-34
Y	voir abrégé ---	18-26
X	EP,A,0 327 522 (NYGREN PER AKE ;ABRAHMS LARS (SE); UHLEN MATHIAS (SE)) 9 Août 1989	1-17, 27-34
Y	voir le document en entier ---	18-26
Y	WO,A,93 06218 (SMITHKLINE BEECHAM BIOLOG) 1 Avril 1993 voir revendications 1,11 ---	21,24,25
Y	WO,A,92 01471 (UAB RESEARCH FOUNDATION) 6 Février 1992 voir page 1, ligne 19 - page 4, ligne 7 voir page 9, ligne 6 - ligne 32 ---	18-21, 25,26
Y	WO,A,91 16926 (NORTH AMERICAN VACCINE INC) 14 Novembre 1991 voir page 7, ligne 15 - page 11, ligne 18 ---	18-26
Y	US,A,4 415 491 (VYAS GIRISH N) 15 Novembre 1983 voir colonne 8, ligne 51 - colonne 9, ligne 4 ---	21,22,25
A	JOURNAL OF MOLECULAR RECOGNITION, vol. 1, no. 2, Avril 1988 pages 69-74, NYGREN ET AL 'ANALYSIS AND USE OF THE SERUM ALBUMIN BINDING DOMAINS OF STREPTOCOCCAL PROTEIN G' cité dans la demande voir le document en entier ---	
2		-/-

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
P,X	DATABASE CHEMICAL ABSTRACTS FILE SERVER STN KARLSRUHE ABSTRACT NO.124:84244, BERZINS ET AL 'IMMUNOGENICITY IN AOTUS MONKEYS OF ISCOM FORMULATED REPEAT SEQUENCES FROM THE PLASMODIUM FALCIPARUM ASEXUAL BLOOD STAGE ANTIGEN PF155/RESA' & VACCINE RES.(1995),4(3),121-33 voir abrégé -----	1-17, 27-34
P,Y		18-26

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP-A-0327522	09-08-89	SE-C- 501169 AT-T- 131494 DE-D- 68925044 JP-A- 2005887 SE-A- 8800378	28-11-94 15-12-95 25-01-96 10-01-90 06-08-89
WO-A-9306218	01-04-93	AU-B- 2566092 PT-A- 100885 ZA-A- 9207199	27-04-93 30-11-93 14-06-93
WO-A-9201471	06-02-92	AU-B- 650040 AU-B- 8330391 CA-A- 2087853 EP-A- 0540645 HU-A- 67362 JP-T- 5509231 NZ-A- 239084 NZ-A- 250402	09-06-94 18-02-92 25-01-92 12-05-93 28-03-95 22-12-93 27-09-94 28-08-95
WO-A-9116926	14-11-91	AU-B- 7777991 CA-A- 2082425 CN-A- 1056816 EP-A- 0597838 HU-A- 65493 NZ-A- 238042	27-11-91 08-11-91 11-12-91 25-05-94 28-06-94 23-12-93
US-A-4415491	15-11-83	US-A- 5017558	21-05-91